P. b. b. Erscheinungsort Wien, Verlagspostamt 1030 Wien

BUNDESGESETZBLATT

FÜR DIE REPUBLIK ÖSTERREICH

Jahrgang 1995 Ausgegeben am 7. Februar 1995 35. Stück

95. Verordnung: Kosmetik — Analysenverordnung [CELEX-Nr.: 380L1335, 382L0434, 383L0514, 385L0490, 387L0143, 390L0207, 393L0073]

95. Verordnung des Bundesministers für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz über Analysenmethoden zur Kontrolle der Zusammensetzung der kosmetischen Mittel (Kosmetik — Analysenverordnung)

Auf Grund der §§ 27 Abs. 1 und 42 Abs. 4 des Lebensmittelgesetzes 1975, BGBl. Nr. 86, zuletzt geändert durch das Bundesgesetz BGBl. Nr. 756/1992, wird verordnet:

§ 1. Amtliche Kontrollen von kosmetischen Mitteln sind in bezug auf

1. die Probenahme (Anlage 1),
2. die Vorbereitung der Proben im Laboratorium (Anlage 2),
3. den Nachweis und die quantitative Bestimmung des freien Natrium- und Kaliumhydroxids (Anlage 3),
4. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Oxalsäure und ihrer alkalischen Salze in Haarpflegemitteln (Anlage 4),
5. die Bestimmung des Chloroformgehalts in Zahnpasten (Anlage 5),
6. die Bestimmung des Zinkgehalts (Anlage 6),
7. den Nachweis und die quantitative Bestimmung der Phenolsulfonsäure (Anlage 7),
8. den Nachweis von Oxidationsmitteln und die quantitative Bestimmung von Wasserstoffperoxid in Haarpflegemitteln (Anlage 8),
9. den Nachweis und die halbquantitative Bestimmung von oxidierenden Farbstoffen in Haarfärbemitteln (Anlage 9),
10. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Nitrit (Anlage 10),
11. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von freiem Formaldehyd (Anlage 11),
12. die quantitative Bestimmung des Resorcingehalts in Shampoos und Haarlotionen (Anlage 12),
13. die quantitative Bestimmung von Methanol im Verhältnis zu Ethanol oder Propanol-2 (Anlage 13),
14. die quantitative Bestimmung von Dichlormethan und 1.1.1-Trichlorethan (Anlage 14),
15. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von 8-Chinolinol und dessen Sulfat (Anlage 15),
16. die quantitative Bestimmung von Ammoniak (Anlage 16),
17. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Nitromethan (Anlage 17),
18. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thioglykolsäure in Dauerwellenpräparaten, Haarentkräuselungsmitteln und Enthaarungsmitteln (Anlage 18),
19. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Hexachlorophen (Anlage 19),
20. die quantitative Bestimmung von Tosylchloramidum natricum (Anlage 20),
21. die quantitative Bestimmung von Gesamtfluorid in Zahnpasten (Anlage 21),
22. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von quecksilberorganischen Verbindungen (Anlage 22),
23. die quantitative Bestimmung von Alkali- und Erdalkalisulfiden (Anlage 23),
24. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Glycerin-1-(4aminobenzoat) (Anlage 24),
25. die quantitative Bestimmung von Chlorbutanol (Anlage 25),
26. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Chinin (Anlage 26),
27. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von anorganischen Sulfiten und Bisulfiten (Anlage 27),

28. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Alkalichloraten (Anlage 28),
29. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Natriumjodat (Anlage 29),
30. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Silbernitrat (Anlage 30)
31. den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Selensulfid in Antischuppen-Shampoos (Anlage 31)
32. die quantitative Bestimmung von löslichem Barium und Strontium in Farbpigmenten in Form von Salzen oder Lacken (Anlage 32)
33. den Nachweis und die Bestimmung von Benzylalkohol (Anlage 33)
34. den Nachweis von Zirkonium und die Bestimmung von Zirkonium, Aluminium und Chlor in nichtaerosolförmigen Antitranspirantien (Anlage 34)
35. den Nachweis und die Bestimmung von Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin und Chlorhexidin (Anlage 35)

nach den in den Anlagen beschriebenen oder gleichwertigen *) Methoden durchzuführen.

§ 2. Diese Verordnung tritt mit dem ihrer Kundmachung folgenden Monatsersten in Kraft.

---

*) Als gleichwertig sind Analysenmethoden anzusehen, die im Rahmen der jeweiligen Fragestellung vergleichbare Ergebnisse liefern. Vergleichbare Ergebnisse sind jedenfalls dann zu erwarten, wenn die in der Verordnung genannten Verfahrenskenndaten von angewandten Verfahren erreicht oder übertroffen werden.

Krammer

Anlage 1

I. PROBENAHME VON KOSMETISCHEN MITTELN

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Vorschrift beschreibt die Probenahme von kosmetischen Mitteln, die in den verschiedenen Laboratorien untersucht werden.

2. DEFINITIONEN

Einzelprobe:

Einheit, die aus einer zum Verkauf bestimmten Partie entnommen ist;

Gesamtprobe:

Summe aller Einzelproben mit demselben Herstellungskennzeichen;

Laborprobe:

Teilmenge der Gesamtprobe, die für die einzelnen Laboratorien bestimmt ist;

Versuchsmenge:

der für eine Analyse erforderliche Teil der Laborprobe;

Behältnis:

Gegenstand, der ein Erzeugnis enthält, und der mit dem Erzeugnis ständig in Berührung kommt.

3. PROBENAHME

3.1. Kosmetische Mittel werden in ihrer Originalpackung entnommen und unverändert dem Laboratorium zugeleitet.

3.2. Bei kosmetischen Mittel die in Großpackungen oder im Einzelverkauf nicht in der Originalpackung des Herstellers auf den Markt gebracht werden, werden für die Probenahme am Ort, ihrer Verwendung bzw. des Verkaufs besondere Vorschriften erlassen.

3.3. Aus der Analysenvorschrift und der Zahl der durch jedes Laboratorium vorzunehmenden Analysen ergibt sich die Anzahl an Einzelproben, die für eine Laborprobe erforderlich sind.

4. IDENTIFIZIERUNG DER PROBEN

4.1. Die Proben sind am Ort der Probenahme gemäß den geltenden Vorschriften des betreffenden Mitgliedstaats, in dem die Probenahme erfolgt, zu versiegeln und zu identifizieren.

4.2. Auf jeder Probe sind folgende Angaben anzubringen:

— Name des kosmetischen Mittels,
— Datum, Stunde und Ort der Probenahme,
— Name der mit der Probenahme beauftragten Person,
— Name der die Untersuchung durchführenden Behörde.

4.3. Über die Probenahme wird gemäß den in dem betreffenden Mitgliedstaat geltenden Vorschriften ein Bericht erstellt.

5. LAGERUNG DER PROBEN

5.1. Die Einzelproben sind entsprechend den vom Hersteller auf dem Etikett angegebenen Anweisungen zu lagern.

5.2. Sofern keine besonderen Anweisungen bestehen, sind alle Laborproben bei einer Temperatur zwischen 10 °C und 25 °C und lichtgeschützt aufzubewahren.

5.3. Die Einzelproben sind erst im Augenblick des Analysebeginns zu öffnen.

Anlage 2

II. VORBEREITUNG DER PROBEN IM LABORATORIUM

1. ALLGEMEINES

1.1. Die Analysebestimmung wird an jeder Einzelprobe durchgeführt. Sofern die Menge zu klein ist, wird eine Mindestzahl von Einzelproben sorgfältig gemischt, bevor die Laborprobe entnommen wird.

1.2. Das Behältnis wird geöffnet — sofern es die entsprechende Analysemethode vorsieht unter inerter Atmosphäre — und die für die Analyse notwendigen Versuchsmengen möglichst rasch entnommen. Danach werden die Analysen unverzüglich durchgeführt. Wenn die Probe konserviert werden muß, wird das Behältnis unter inerter Atmosphäre wieder verschlossen.

1.3. Kosmetische Mittel können in flüssigem, festem oder pastösem Zustand sein. Es kann vorkommen, daß ursprünglich homogene Erzeugnisse später in mehreren Phasen vorliegen. In solchen Fällen müssen sie erneut homogenisiert werden.

1.4. Sofern ein kosmetisches Mittel auf besondere Weise zum Verkauf angeboten wird, so daß nicht im Einklang mit diesen Vorschriften verfahren werden kann, und sofern keine zutreffenden Untersuchungsmethoden bestehen, kann nach eigenen Methoden verfahren werden, wenn diese in schriftlicher Form als Teil des Analyseberichts festgelegt werden.

2. FLÜSSIGPHASEN

2.1. In diesem Zustand befinden sich Erzeugnisse wie „Eau de toilette", Lotionen, Lösungen, Öle, milchige Zubereitungen, die in Flakons, Flaschen, Ampullen oder Tuben verpackt sind.

2.2. **Entnahme der Versuchsmenge:**

— Vor dem Öffnen das Behältnis kräftig schütteln.
— Öffnen.
— Einige Milliliter der Flüssigkeit werden zur visuellen Prüfung in ein Reagenzröhrchen gegeben, um festzustellen, welche Eigenschaften das Erzeugnis bei der Entnahme der Versuchsmenge hat.
— Behältnis wieder verschließen oder die benötigte Versuchsmenge entnehmen.
— Behältnis wieder sorgfältig verschließen.

3. PASTÖSE PHASEN

3.1. In diesem Zustand befinden sich Erzeugnisse wie Pasten, Cremes, Emulsionen und Gele, die in Tuben, Druckflaschen oder Tiegel verpackt sind.

3.2. **Entnahme der Versuchsmenge:**

Zwei Fälle sind möglich:

3.2.1. Behältnisse mit enger Öffnung (Tube, Druckflasche). Mindestens den ersten Zentimeter des zu analysierenden Produkts beseitigen. Versuchsmenge entnehmen und Behältnis sofort wieder verschließen.

3.2.2. Behältnis mit weiter Öffnung (Tiegel). Oberfläche leicht wegschaben, um die oberste Schicht zu entfernen. Die Versuchsmenge entnehmen und das Behältnis sofort wieder verschließen.

4. FESTE PHASEN

4.1. In diesem Zustand befinden sich Erzeugnisse wie Puder, Kompaktpuder oder Stifte, die in Schachteln oder Dosen verpackt sein können.

4.2. **Entnahme der Versuchsmenge:**

Zwei Fälle sind möglich:

4.2.1. Puder. Vor dem Entstöpseln oder Öffnen Puder kräftig schütteln. Öffnen und Versuchsmenge entnehmen.

4.2.2. Kompaktpuder oder Stift. Durch leichtes Schaben Oberfläche des festen Körpers entfernen und Versuchsmenge entnehmen.

5. DRUCKGASPACKUNGEN (Aerosole)

5.1. Diese Erzeugnisse sind in § 2 der Aerosolpackungsverordnung, BGBl. Nr. 560/1994 i. d. j. g. F, definiert.

5.2. **Laborprobe:**

Die Druckgaspackung wird zunächst kräftig geschüttelt. Sodann wird eine repräsentative Menge des Inhalts mittels eines Anschlußstücks (siehe Abbildung 1) in eine mit einem Aerosolventil ausgestattete kunststoffbeschichtete durchsichtige Flasche übergeleitet. Die Flasche besitzt kein Steigrohr. In Sonderfällen kann die Analysenmethode die Verwendung anderer Anschlußstücke vorsehen. Durch dieses Überleiten wird der Inhalt der Druckgaspackung gut sichtbar. Vier Fälle sind möglich:

5.2.1. Der Inhalt ist eine homogene Lösung. Er ist als solcher für die weitere Analyse direkt verwendbar.

5.2.2. Der Inhalt besteht aus zwei Flüssigphasen. Jede einzelne Phase kann nach dem Umfüllen der untersten Phase in eine zweite Aufnahmeflasche analysiert werden. Beim Umfüllen muß die erste Aufnahmeflasche mit dem Ventil nach unten gehalten werden. Die untere Phase ist häufig wäßrig und enthält kein Treibgas mehr (Fall Butan/Wasser).

5.2.3. Der Inhalt besteht aus einem Puder in Suspension. Nach Abtrennung des Puders kann die Flüssigphase analysiert werden.

5.2.4. Aerosolschaum. In die Aufnahmeflasche wird eine Menge von ca. 5 bis 10 Gramm 2-Methoxyäthanol genau eingewogen. Dieser Stoff verhindert bei der Entgasung die Schaumbildung, so daß die Treibgase ohne Flüssigkeitsverlust abgetrennt werden können.

5.3. **Hilfsmittel**

Das Anschlußstück P1 (siehe Abbildung 1) wird aus Duraluminium oder aus Messing angefertigt. Es ist so beschaffen, daß es mittels eines Anschlußstücks aus Polyäthylen an die unterschiedlichen Ventilsysteme paßt (siehe Abbildungen 2 und 3).

Die Aufnahmeflasche (siehe Abbildung 4) besteht aus weißem Glas, das außen mit einer durchsichtigen Kunststoffschutzschicht überzogen ist. Der Flascheninhalt beträgt 50 bis 100 ml. Die Flasche ist mit dem Ventil, aber ohne Steigrohr ausgestattet.

5.4. **Verfahren**

Um eine ausreichende Menge überzuleiten, ist es erforderlich, die Luft aus der Flasche zu verdrängen. Zu diesem Zweck werden mittels des Anschlußstücks P1 ungefähr 10 ml Dichlordifluormethan oder Butan (je nach Art des zu untersuchenden Aerosols) eingefüllt. Dieses läßt man bis zum vollkommenen Verschwinden der flüssigen Phase verdampfen; die Flasche ist dabei mit dem Ventil nach oben zu halten. Das Anschlußstück wird abgetrennt und die Aufnahmeflasche gewogen („a" Gramm). Die Druckgaspackung, von der eine Probe entnommen werden soll, wird kräftig geschüttelt. Nun wird das Anschlußstück P1 auf das Ventil der Druckgasflasche aufgesetzt (Ventil nach oben), dann die Aufnahmeflasche P_t (Hals nach unten) auf das Anschlußstück P1 angeschlossen und gedrückt. Auf diese Weise wird die Aufnahmeflasche bis zu etwa $^2/_3$ gefüllt. Wird die Überleitung aufgrund eines Druckausgleichs vorzeitig unterbrochen, so kann sie durch Abkühlen der Aufnahmeflasche fortgesetzt werden. Das Anschlußstück P1 wird abgenommen, die gefüllte Aufnahmeflasche gewogen („b" Gramm) und das Gewicht des übergeleiteten Erzeugnisses (m_1) ermittelt ($m_1 = b - a$).

Die auf diese Weise erhaltene Probe kann verwendet werden:

1. für die übliche chemische Analyse,
2. für eine gaschromatographische Analyse der flüchtigen Bestandteile.

5.4.1. *Chemische Analyse*

Mit der Aufnahmeflasche — Hals nach oben — wird nun wie folgt verfahren:

— Verdampfen. Wenn durch die Verdampfung Schaum gebildet wird, so ist eine Aufnahmeflasche zu verwenden, in die zuvor mittels einer Injektionsspritze durch das Anschlußstück P1 eine bekannte Menge von 2-Methoxyäthanol (ca. 5 bis 10 g) eingegeben wird.

— Die quantitative Abtrennung der flüchtigen Bestandteile wird durch Bewegen im Wasserbad von 40 °C vervollständigt.

— Nach erneutem Wiegen der Aufnahmeflasche („c" Gramm) wird das Gewicht des Rückstands (m_2) ermittelt ($m_2 = c - a$).

(Bei der Berechnung des Gewichts des Rückstands ist gegebenenfalls die Menge des zugegebenen Methoxyäthanols zu berücksichtigen.)

— Anschlußstück P1 von der Aufnahmeflasche abnehmen;

— Rückstand in einer bekannten Menge eines geeigneten Lösungsmittels quantitativ lösen;

— Durchführung der gewünschten Analyse an einer aliquoten Teilmenge.

Formeln für die Berechnung:

$$R = \frac{r \quad m2}{m1} \text{ und } Q = \frac{R \quad P}{100};$$

dabei ist:

m1 = das Gewicht des in die Aufnahmeflasche übergeleiteten Erzeugnisses,

m2 = das Gewicht des Rückstands nach Erwärmen bei 40 °C,

r = Prozentanteil der enthaltenen Substanz in m2 (Bestimmung durch geeignete Methode),

R = Prozentanteil der enthaltenen Substanz im gesamten Erzeugnis,

Q = absolute Gesamtmenge der enthaltenen Substanz in der Druckgaspackung,

P = Nettogewicht der ursprünglichen Druckgaspackung.

5.4.2. *Gaschromatographische Analyse der flüchtigen Bestandteile*

5.4.2.1. Prinzip

Aus der Aufnahmeflasche P_t wird mittels einer Injektionsspritze zur Gaschromatographie eine ausreichende Menge an Flüssigkeit entnommen. Der Inhalt der Spritze wird sodann in den Chromatograph injiziert.

5.4.2.2. Hilfsmittel

Injektionsspritze zur Gaschromatographie (Abbildung 5) „Precision sampling", Serie A2 (oder gleichwertige Spritze). Diese Spritze ist an ihrem Nadelende mit einem Verschlußhahn versehen. Die Spritze ist mit der Aufnahmeflasche durch das Anschlußstück P1 und durch ein Polyäthylen-Röhrchen (Länge 8 mm, Durchmesser 2,5 mm) verbunden.

5.4.2.3. Verfahren

Nach Überleitung einer ausreichenden Menge des Erzeugnisses in die Aufnahmeflasche mittels des Anschlußstücks P1 wird das konische Ende der Spritze, wie unter 5.4.2.2 beschrieben, auf die Aufnahmeflasche aufgesetzt. Bei geöffnetem Verschlußhahn wird eine ausreichende Menge an Flüssigkeit angesaugt; Gasblasen durch wiederholtes Hin- und Herbewegen des Kolbens entfernt (erforderlichenfalls Kühlen der Spritze). Wenn die Spritze eine ausreichende Menge an blasenfreier Flüssigkeit enthält, wird der Verschlußhahn geschlossen und die Spritze von der Aufnahmeflasche gelöst. Nun wird eine Nadel aufgesetzt, die Spritze in das Einlaßsystem der Chromatographen eingeführt, der Verschlußhahn geöffnet und injiziert.

5.4.2.4. Interner Standard

Sofern die Anwendung eines internen Standards erforderlich ist, so kann dieser ebenfalls mit Hilfe einer Spritze und eines Anschlußstücks in die Aufnahmeflasche eingegeben werden.

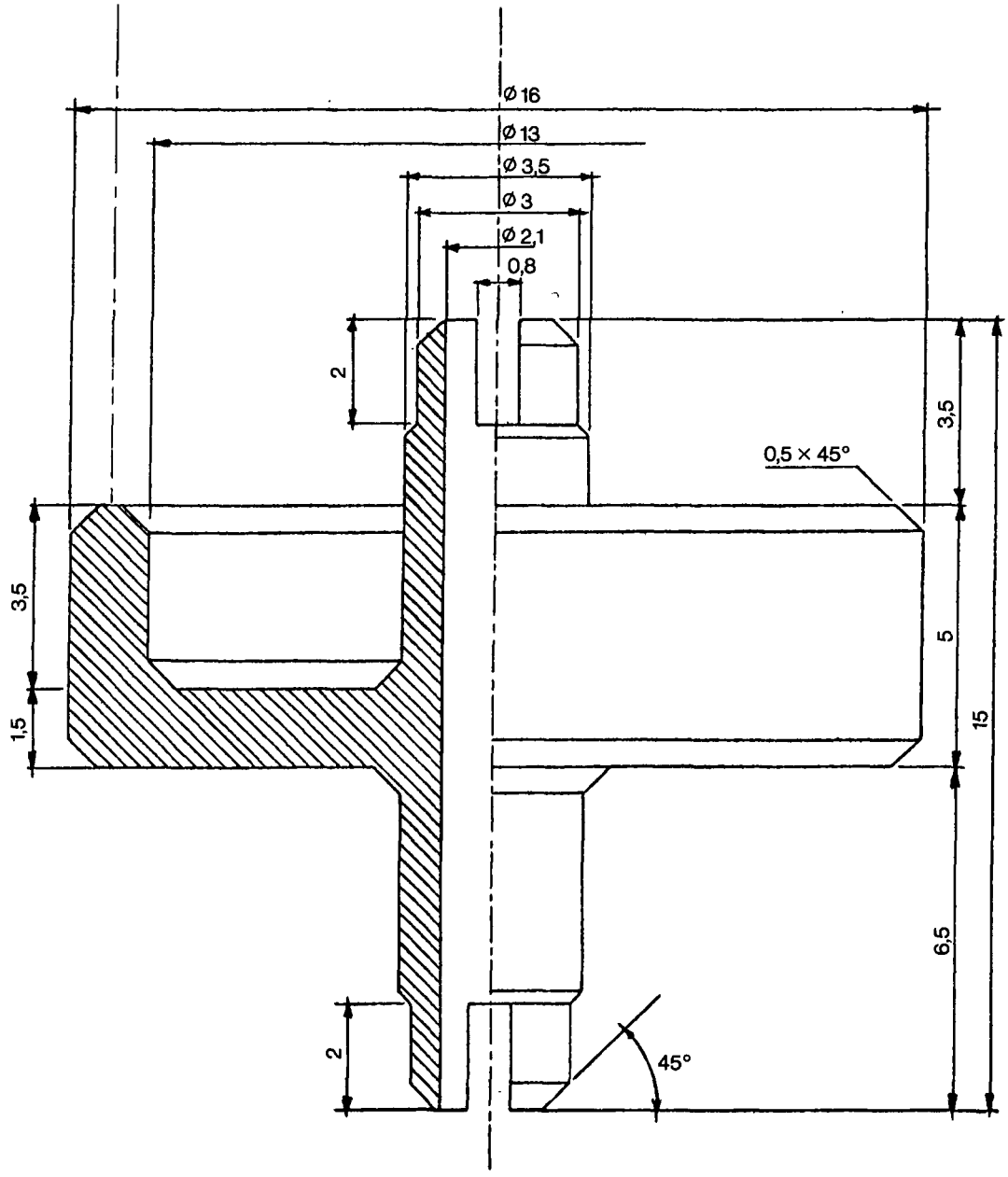


Abbildung 1

Anschlußstück P1

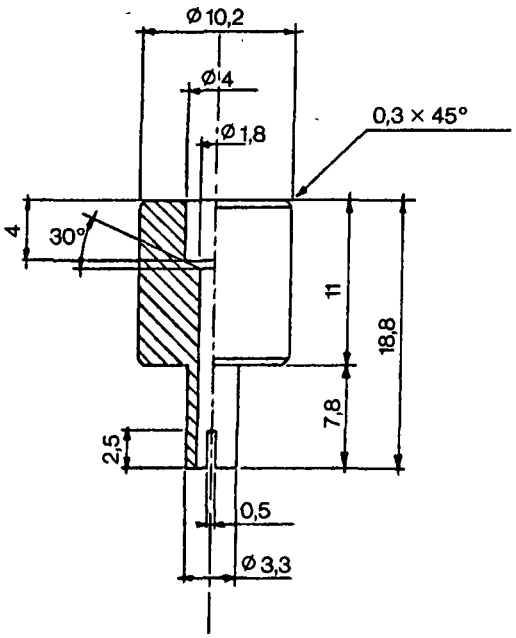


Abbildung 2

Verbindungsstück M 2

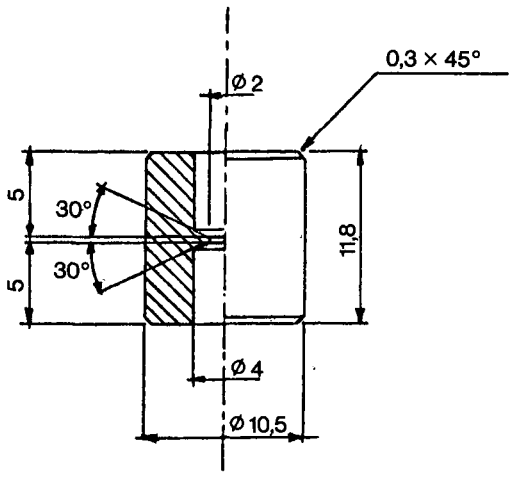


Abbildung 3

Verbindungsstück M 1

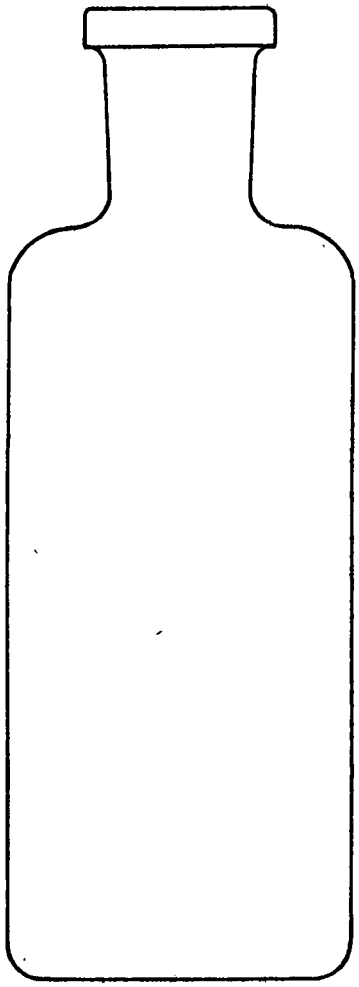


Abbildung 4

Aufnahmeflasche

Inhalt 50 bis 100 ml

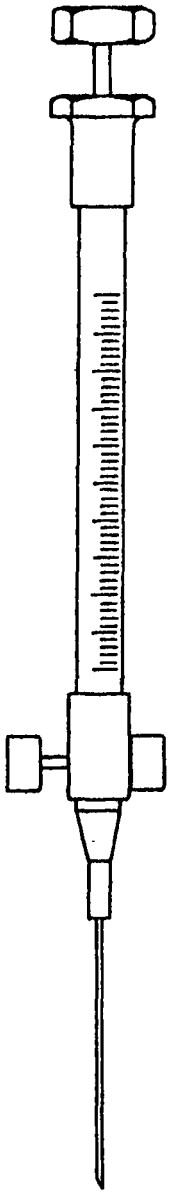


Abbildung 5

Injektionsspritze zur Gaschromatographie

III. NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES FREIEN NATRIUM- UND KALIUMHYDROXIDS

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die Identifizierung signifikanter Mengen freier Natrium- und/oder Kaliumhydroxide in kosmetischen Mitteln und die quantitative Bestimmung des freien Natrium- und Kaliumhydroxids in Entkräuselungsmitteln und Nagelhautentfernern.

2. DEFINITION

Freies Natrium- und Kaliumhydroxid wird durch die bei der Neutralisation des kosmetischen Mittels unter den vorgeschriebenen Bedingungen verbrauchte (eingestellte) Säuremenge bestimmt. Die titrierte Menge wird als freies Natriumhydroxid angegeben.

3. PRINZIP

Die Probe wird in Wasser gelöst oder dispergiert und mit einer eingestellten Säure titriert. Die pH-Wertänderung wird im Verlauf der Säurezugabe registriert. Bei einer einfachen Natrium- oder Kaliumhydroxidlösung entspricht der Endpunkt einer eindeutigen maximalen neutralisierten Menge des registrierten pH-Wertes.

Die normale Titrationskurve kann verändert werden durch die Anwesenheit von

a) Ammoniak und andere schwache organische Basen, die selbst eine verhältnismäßig flache Titrationskurve aufweisen. Ammoniak wird bei dieser Methode durch Verdampfen bei vermindertem Druck bei Zimmertemperatur entfernt;

b) Salzen schwacher Säuren, die eine Titrationskurve mit mehren Umschlagspunkten ergeben können. In solchen Fällen entspricht nur der erste Teil der Kurve bis zu dem ersten Umschlagspunkt der Neutralisation des Hydroxid-Ions durch das freie Natrium- oder Kaliumhydroxid.

Ein Alternativverfahren — die Titration in alkoholischer Lösung — ist dort anzuwenden, wo eine größere Störung durch Salze schwacher Säuren verursacht wird.

Auch wenn theoretisch die Möglichkeit besteht, daß andere lösliche starke Basen, wie zum Beispiel Lithiumhydroxid und quaternäre Ammoniumhydroxide einen hohen pH-Wert verursachen könnten, ist ihre Anwesenheit in kosmetischen Mitteln dieser Art sehr unwahrscheinlich.

4. IDENTIFIZIERUNG

4.1. **Reagenzien**

4.1.1. standardisierte alkalische Pufferlösung mit einem pH von 9,18: 0,05 M Natriumtetraborat-Dekahydrat.

4.2. **Apparative Ausrüstung**

4.2.1. übliche Laborgläser
4.2.2. pH-Meter
4.2.3. Glaselektrode
4.2.4. standardisierte Kalomelelektrode.

4.3. **Verfahren**

Die Eichung des pH-Meters erfolgt mit Hilfe der Pufferlösung (4.1.1).

Eine 10%ige Lösung oder Dispersion der Probe ist in Wasser anzusetzen und abzufiltern; der pH-Wert ist zu messen. Bei einem pH-Wert von $\geqq$ 12 ist eine quantitative Bestimmung vorzunehmen.

5. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

5.1. **Titration in wäßriger Lösung**

5.1.1. *Reagenzien*
5.1.1.1. 0,1 N HCl.
5.1.2. *Apparative Ausrüstung*
5.1.2.1. übliche Laborgläser
5.1.2.2. pH-Meter, eventuell mit Schreiber
5.1.2.3. Glaselektrode
5.1.2.4. standardisierte Kalomelelektrode.

5.1.3. *Verfahren*

In ein 150-ml-Becherglas werden etwa 0,5 bis 1,0 g der Probe genau eingewogen. Nach Zugabe einiger Siedesteinchen wird das Becherglas, sofern Ammoniak vorhanden ist — in einen Vakuumexsikkator gestellt und mit einer Wasserstrahlpumpe drei Stunden lang evakuiert, bis kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist. Danach werden 100 ml Wasser hinzugefügt, der Rückstand homogenisiert und mit 0,1 N Salzsäure (5.1.1.1) titriert. Die Änderung des pH-Wertes ist zu registrieren (5.1.2.2).

5.1.4. *Berechnung*

Die Titrationskurve wird aufgenommen und die Umschlagspunkte abgelesen. Tritt der erste Umschlagspunkt bei einem pH-Wert unter 7 auf, so ist die Probe frei von Natrium- oder Kaliumhydroxid. Bei zwei oder mehr Umschlagspunkten sind nur die ersten relevant.

Das Titransvolumen bis zu dem ersten Umschlagspunkt ist festzustellen.

Wenn V das Titransvolumen in ml,
M die Masse dieses Probenteils in Gramm bedeuten, dann ist die Konzentration von Natrium- und/oder Kaliumhydroxiden in der Probe, ausgedrückt in Masseprozent von Natriumhydroxid:

$$\% \text{ NaOH} = 0{,}4 \frac{V}{M}$$

Es ist denkbar, daß sich in der Titrationskurve trotz der Anzeichen für die Anwesenheit einer signifikanten Natrium- oder Kaliumhydroxidmenge kein ausgeprägter Umschlagspunkt ausbildet. In diesem Fall ist die Bestimmung durch Titration in Isopropanol zu wiederholen.

5.2. **Titration in Isopropanol**

5.2.1. *Reagenzien*

5.2.1.1. Isopropanol

5.2.1.2. 1 N HCl

5.2.1.3. 0,1 N HCl in Isopropanol: Unmittelbar vor dem Gebrauch durch Verdünnung der wässerigen 1,0 N HCl mit Isopropanol anzusetzen.

5.2.2. *Apparative Ausrüstung*

5.2.2.1. übliche Laborgläser

5.2.2.2. pH-Meter, eventuell mit Schreiber

5.2.2.3. Glaselektrode

5.2.2.4. standardisierte Kalomelelektrode.

5.2.3. *Verfahren*

In einem 150-ml-Becherglas werden etwa 0,5 bis 1,0 g der Probe genau eingewogen. Nach Zugabe einiger Siedesteinchen wird das Becherglas — sofern Ammoniak vorhanden ist — in einen Vakuumexsikkator gestellt und mit einer Wasserstrahlpumpe drei Stunden lang evakuiert, bis kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist. Danach werden 100 ml Isopropanol hinzugefügt, der Rückstand homogenisiert und mit 0,1 N HCl in Isopropanol (5.2.1.3) titriert. Die Änderung des pH-Wertes (5.2.2.2) ist zu registrieren.

5.2.4. *Berechnung*

Wie in (5.1.4) tritt der erste Umschlagspunkt bei einem pH-Wert von etwa 9 auf.

5.3. **Wiederholbarkeit (1)**

Bei einem Gehalt von 5 % m/m darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier Parallelbestimmungen an derselben Probe nicht höher sein als 0,25 %.

(1) Siehe Norm ISO/DIS 5725.

Anlage 4

IV. NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON OXALSÄURE UND IHRER ALKALISCHEN SALZE IN HAARPFLEGEMITTELN

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die im folgenden beschriebene Methode ist für die quantitative und qualitative Bestimmung von Oxalsäure und deren Alkalisalze in Haarpflegemitteln geeignet. Sie kann in farblosen, wässerigen oder wässerigalkoholischen Lösungen und Lotionen, die etwa 5 % Oxalsäure oder eine äquivalente Menge deren Alkalisalze enthalten, verwendet werden.

2. DEFINITION

Die nach dieser Methode bestimmten Gehalte der Oxalsäure und/oder ihrer Alkalisalze werden in Massenprozent (m/m) angegeben.

3. PRINZIP

Nach der Entfernung eventuell anwesender anionaktiver Tenside mittels p-Toluidinhydrochlorid wird die Oxalsäure und/oder ihre Alkalisalze gefällt und die Lösung filtriert. Der Niederschlag wird in Schwefelsäure gelöst und mit Kaliumpermanganat titriert.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Ammoniumacetatlösung: 5%ig (m/m)
4.2. Calciumchloridlösung: 10%ig (m/m)
4.3. Äthanol: 95%ig (v/v)
4.4. Tetrachlorkohlenstoff
4.5. Diäthyläther
4.6. p-Toluidinhydrochloridlösung: 6,8%ig (m/m)
4.7. 0,1 N Kaliumpermanganatlösung
4.8. Schwefelsäure: 20%ig (m/m)
4.9. Salzsäure: 10%ig (m/m)
4.10. Natriumacetat $3H_2O$
4.11. Eisessig
4.12. Schwefelsäure (1:1)
4.13. Bariumhydroxidlösung (gesättigt).

5. GERÄTE

5.1. Scheidetricher: 500 ml
5.2. Bechergläser: 50 und 600 ml
5.3. Glasfiltertiegel: G-4
5.4. Meßzylinder: 25 und 100 ml
5.5. Pipetten: 10 ml
5.6. Saugflasche: 500 ml
5.7. Wasserstrahlpumpe
5.8. Thermometer: 0 bis 100 °C
5.9. Magnetrührer mit Heizelement
5.10. Magnetrührstäbchen, teflonbeschichtet
5.11. Bürette: 25 ml
5.12. Erlenmeyerkolben: 250 ml.

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. 6 bis 7 g der Probe werden in ein 50-ml-Becherglas eingewogen, mit verdünnter Salzsäure (4.9) auf $p_H = 3$ eingestellt und dann die Lösung mit 100 ml destilliertem Wasser in einen Scheidetrichter überführt. Anschließend werden 25 ml Äthanol (4.3), 25 ml p-Toluidinhydrochloridlösung (4.6) sowie 25 bis 30 ml Tetrachlorkohlenstoff (4.4) hinzugefügt und die Mischung kräftig geschüttelt.

6.2. Nach der Trennung der Phasen wird die untere Schicht (organische Phase) verworfen, die Extraktion mit den unter 6.1 genannten Reagenzien wiederholt und die organische Phase erneut verworfen.

6.3. Die wässerige Lösung wird in ein 600-ml-Becherglas gespült und der noch in der Lösung enthaltene Tetrachlorkohlenstoff verkocht.

6.4. Anschließend werden 50 ml Ammoniumacetatlösung (4.1) hinzugegeben, die Lösung zum Sieden erhitzt (5.9) und zu der kochenden Lösung 10 ml erwärmte Calciumchloridlösung (4.2) unter Rühren hinzugefügt; den Niederschlag läßt man absetzen.

6.5. Die vollständige Fällung wird durch Zusatz einiger Tropfen Calciumchloridlösung (4.2) geprüft. Man läßt auf Zimmertemperatur abkühlen, fügt unter Rühren (5.10) 200 ml Äthanol (4.3) hinzu und läßt diese Lösung 30 Minuten lang stehen.

6.6 Die Flüssigkeit wird durch einen Glasfiltertiegel (5.3) filtriert, der Niederschlag mit einer kleinen Menge warmem Wasser (50 bis 60 °C) in den Glasfiltertiegel eingebracht und mit kaltem Wasser gewaschen.

6.7. Anschließend wird der Niederschlag noch fünfmal mit wenig Methanol (4.3) und etwas Diäthyläther (4.5) nachgewaschen, danach in 50 ml heißer Schwefelsäure (4.8) gelöst und die Lösung durch einen Filtertiegel gesaugt.

6.8. Die Lösung wird quantitativ in einen Erlenmeyerkolben (5.12) überführt und mit Kaliumpermanganatlösung (4.7) bis zur schwachen Rosafärbung titriert.

7. BERECHNUNG

Der Oxalsäuregehalt der Probe wird in Massenprozent nach der folgenden Formel berechnet:

$$\% \text{ Oxalsäure} = \frac{A \times 4{,}50179 \times 100}{E \times 1000}$$

hierbei ist:

A = Verbrauch an 0,1 N Kaliumpermanganatlösung (6.8),
E = Einwaage der Probe in Gramm (6.1),
4,50179 = Umrechnungsfaktor für Oxalsäure.

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Oxalsäuregehalt von etwa 5 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen von zwei Parallelbestimmungen an der gleichen Probe 0,15 % nicht überschreiten.

9. NACHWEIS

9.1. Prinzip

Oxalsäure und/oder ihre Alkalisalze werden als Calciumoxalat gefällt und in Schwefelsäure gelöst. Der Lösung wird wenig Kaliumpermanganatlösung hinzugegeben, das durch Oxalat unter Freisetzen von Kohlensäure entfärbt wird. Durch Einleiten der Kohlensäure in Bariumhydroxidlösung entsteht ein weißer Niederschlag (Trübung) von Bariumcarbonat.

9.2. Verfahren

9.2.1. Ein Teil der Probe wird nach 6.1 bis 6.3 behandelt; eventuell enthaltene waschaktive Substanzen werden auf diese Weise entfernt.

9.2.2. Etwa 10 ml der nach 9.2.1 erhaltenen Lösung wird eine Spatelspitze Natriumacetat (4.10) zugegeben und die Lösung mit einigen Tropfen Eisessig (4.11) angesäuert.

9.2.3. Dieser Lösung wird eine 10%ige Calciumchloridlösung (4.2) zugegeben und danach die Lösung filtriert. Der Calciumoxalatniederschlag wird in 2 ml Schwefelsäure 1 : 1 (4.12) gelöst.

9.2.4. Die Lösung wird in ein Reagenzglas eingegeben und tropfenweise etwa 0,5 ml 0,1 N Kaliumpermanganatlösung hinzugefügt. Bei Gegenwart von Oxalat entfärbt sich diese Lösung erst langsam und dann schnell.

9.2.5. Nach der Zugabe der Kaliumpermanganatlösung (4.7) wird das Reagenzglas sofort mit einem geeigneten Stopfen mit einem Glasröhrchen verschlossen, leicht erwärmt und die freigesetzte Kohlensäure in gesättigte Bariumhydroxidlösung (4.13) eingeleitet. Die Bildung einer weißen Trübung von Bariumcarbonat innerhalb von 3 bis 5 Minuten zeigt das Vorhandensein von Oxalsäure an.

---

(1) Siehe Norm ISO/DIS 5725.

Anlage 5

V. BESTIMMUNG DES CHLOROFORMGEHALTS IN ZAHNPASTEN

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die gaschromatographische Bestimmung von Chloroform in Zahnpasten. Sie eignet sich für die Bestimmung eines Chloroformgehalts bis zu 5 %.

2. DEFINITION

Das nach dieser Arbeitsvorschrift bestimmte Chloroform wird in Massenprozent des Erzeugnisses ausgedrückt.

3. PRINZIP

Die Zahnpasta wird in einem Gemisch von Dimethylformamid und Methanol, dem eine bekannte Menge Acetonitril als interner Standard zugegeben ist, suspendiert und zentrifugiert. Ein Teil der flüssigen Phase wird gaschromatographisch analysiert und danach der Chloroformgehalt berechnet.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Porapak Q oder Chromosorb 101, 80—100 mesh oder gleichwertiges Material
4.2. Acetonitril
4.3. Chloroform
4.4. Dimethylformamid
4.5. Methanol
4.6. Lösung für den internen Standard:
Mit einer Pipette werden 5 ml Dimethylformamid (4.4) in einen 50-ml-Meßkolben eingegeben und hierzu etwa 300 mg (M) Acetonitril genau eingewogen. Danach wird bis zur Marke mit Dimethylformamid aufgefüllt und gemischt.

4.7. Lösung zur Bestimmung des relativen Ansprechfaktors:
5,0 ml der internen Standardlösung (4.6) werdem mit einer Pipette in einen 10-ml-Meßkolben gegeben, hierzu etwa 300 mg (M_1) Chloroform (4.3) genau eingewogen und bis zur Marke mit Dimethylformamid aufgefüllt.

5. GERÄTE

5.1. Analysenwaage
5.2. Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor
5.3. Injektionsspritze: 5 bis 10 µl mit 0,1-Mikrolitereinteilung
5.4. Meßpipetten: 1, 4 und 5 ml
5.5. Meßkolben: 10 und 50 ml
5.6. Reagenzgläser mit etwa 20 ml Volumen mit Schraubstopfen, der an der Innenseite mit einem teflonbeschichteten Verschlußplättchen versehen ist
5.7. Zentrifuge

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. **Empfohlene gaschromatographische Bedingungen**

6.1.1. Säulentyp: Glas
Länge: 150 cm
Durchmesser innen: 4 mm
Durchmesser außen: 6 mm

6.1.2. Säulenfüllmaterial: Poropak Q oder Chromosorb 101 — 80 bis 100 mesh oder gleichwertiges Material (4.1).

6.1.3. Detektor: Flammenionisationsdetektor, dessen Empfindlichkeit so einzustellen ist, daß bei Injektion von 3 µl der Lösung (4.7) die Höhe des Acetonitril-Peaks etwa 3/4 der Gesamtskala abdeckt.

6.1.4. *Gase:*

Trägergas: Stickstoff — 65 ml pro min.
Hilfsgase: Luft oder Sauerstoff; der Gasdurchsatz für den Flammenionisationsdetektor ist so einzustellen, daß der Luft- oder Sauerstoffdurchsatz 5- bis 10mal höher als der Wasserstoffdurchsatz ist.
Wasserstoff.

6.1.5. *Temperatur:*
Injektionsblock: 210 °C
Detektor: 210 °C
Säule: 175 °C

6.1.6. *Schreiber:*
Papiervorschub etwa 100 cm pro Stunde.

6.2. **Probenvorbereitung**
Die Probe für die Analyse wird einer noch nicht geöffneten Tube entnommen. Ein Drittel des Tubeninhalts ist zu verwerfen. Danach wird die Tube verschlossen, der Inhalt gründlich durchgemischt und die Analysenprobe entnommen.

6.3. **Quantitative Bestimmung**

6.3.1. 6 bis 7 g (M_0) der nach (6.2) vorbereiteten Zahnpastenprobe werden auf 10 mg genau in ein Reagenzglas mit Schraubstopfen (5.6) eingewogen und einige Glasperlen beigegeben.

6.3.2. In das Reagenzglas werden 5,0 ml der Standardlösung (4.6), 4 ml Dimethylformamid (4.4) und 1 ml Methanol (4.5) einpipettiert, mit dem Schraubstopfen verschlossen und homogenisiert.

6.3.3. Das verschlossene Reagenzglas wird eine halbe Stunde mechanisch geschüttelt und dann etwa 15 Minuten bei einer Drehzahl, die eine saubere Trennung der Phasen erlaubt, zentrifugiert.
Bemerkung: Gelegentlich kommt es vor, daß die flüssige Phase nach dem Zentrifugieren noch getrübt ist. Hier läßt sich eine Verbesserung erreichen indem man 1 bis 2 g Natriumchlorid zu der flüssigen Phase gibt und erneut zentrifugiert.

6.3.4. 3 µl dieser Lösung (6.3.3) werden unter den in (6.1) beschriebenen Bedingungen injiziert. Dieser Vorgang wird wiederholt. Bei Beachtung der oben beschriebenen Voraussetzungen gelten als Retentionszeiten folgende Richtwerte:

Methanol	ca. 1 Min.
Acetonitril	ca. 2,5 Min.
Chloroform	ca. 6 Min.
Dimethylformamid	15 Min.

6.3.5. *Bestimmung des relativen Ansprechfaktors*
Zur Bestimmung des relativen Ansprechfaktors werden 3 µl der Lösung (4.7) injiziert. Dieser Vorgang ist zu wiederholen. Der relative Ansprechfaktor ist täglich zu bestimmen.

7. BERECHNUNG

7.1. **Berechnung des relativen Ansprechens**

7.1.1. Die Höhe und die Breite in halber Höhe des Acetonitril-Peaks und des Chloroform-Peaks ist zu messen und die Fläche der beiden Peaks mit der Formel Höhe × Breite (in halber Höhe) zu berechnen.

7.1.2. Man bestimmt die Fläche der nach (6.3.5) erhaltenen Chromatogramme und berechnet den relativen Ansprechfaktor f_s mit Hilfe folgender Formel:

$$f_s = \frac{As \quad Mi}{Ms \quad Ai} = \frac{As \quad {}^1/_{10}\ M}{Ai \quad M1};$$

hierbei ist:

f_s = relativer Ansprechfaktor für das Chloroform,
As = Fläche des Chloroform-Peaks (6.3.5),
Ai = Fläche des Acetonitril-Peaks (6.3.5),
Ms = Chloroformmenge in mg pro 10 ml der nach (6.3.6) aufgegebenen Lösung ($= M_1$),
Mi = Acetonitrilmenge in mg pro 10 ml der nach (6.3.6) aufgegebenen Lösung ($= {}^1/_{10}$ M)

Abschließend wird das Mittel der festgestellten Werte berechnet.

7.2. **Berechnung des Chloroformgehalts**

7.2.1. Berechnet wird die Fläche des Chloroform-Peaks und des Acetonitril-Peaks der gemäß (6.3.4) erhaltenen und nach (7.1.1) ausgewerteten Chromatogramme.

7.2.2. Der Gehalt der Zahnpasta an Chloroform wird nach der folgenden Formel berechnet:

$$\%\,X = \frac{As}{f_s} \cdot \frac{Mi}{M_{sx}} \cdot \frac{Ai}{100\,\%} = \frac{As \cdot M}{f_s \cdot Ai \cdot M_o \cdot 100};$$

hierbei ist:

% X = Gehalt an Chloroform in % der Masse der Zahnpasta,

As = Fläche des Chloroform-Peaks (6.3.4),

Ai = Fläche des Acetonitril-Peaks (6.3.4),

M_{sx} = Masse in mg der nach (6.3.1) geprüften Analysenprobe (= 1000 M_o),

Mi = Acetonitrilmenge in mg pro 10 ml der nach (6.3.2) erhaltenen Lösung ($^1/_{10}$ M).

Abschließend wird der Mittelwert der festgestellten Gehalte berechnet. Das Ergebnis wird mit einer Dezimalstelle nach dem Komma angegeben.

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Chloroformgehalt von 3 % m/m darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier Parallelbestimmungen an derselben Probe nicht höher sein als 0,3 %.

Anlage 6

VI. BESTIMMUNG DES ZINKGEHALTS

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die Bestimmung von Zink, das als Chlorid, Sulfat bzw. Phenolsulfonat oder als Kombination mehrerer dieser Zinksalze in Kosmetika enthalten ist.

2. DEFINITION

Der Zinkgehalt der Probe wird als Zink-2-methyl-8-oxychinolat gravimetrisch nach dem nachstehenden Verfahren bestimmt und als Massenprozent Zink angegeben.

3. PRINZIP

Das gelöste Zinksalz wird in saurem Milieu als Zink-2-methyl-8-oxychinolat gefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert, getrocknet und ausgewogen.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Ammoniak, konz. 25 %ig (m/m); $d_4^{20} = 0{,}91$

4.2. Eisessig

4.3. Ammoniumacetat

4.4. 2-Methyl-8-oxychinolin

4.5. Ammoniaklösung: 6 %ig (m/v). Hierzu werden 240 g Ammoniak (4.1) in einen 1000-ml-Meßkolben gegeben und mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

4.6. Ammoniumacetatlösung; 0,2 molar: Hierzu werden 15,4 g Ammoniumacetat (4.3) in destilliertem Wasser gelöst, die Lösung in einen 1000-ml-Meßkolben eingegeben, bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und gemischt.

4.7. 2-Methyl-8-oxychinolin-Lösung: 5 g 2-Methyl-8-oxychinolin werden in 12 ml Eisessig in einem 1000-ml-Meßkolben gelöst, bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und gemischt.

5. GERÄTE

5.1. Meßkolben: 100 und 1000 ml

5.2. Bechergläser: 400 ml

5.3. Meßzylinder: 50 und 150 ml

5.4. Meßpipetten: 10 ml

(1) Siehe Norm ISO/DIS 5725.

5.5. Glasfiltertiegel G 4
5.6. Saugflasche: 500 ml
5.7. Wasserstrahlpumpe
5.8. Thermometer: Skala 0 bis 100 °C
5.9. Exsikkator mit geeignetem Trocknungsmittel mit Feuchtigkeitsindikator, z. B. Silikagel oder gleichwertiges
5.10. Trockenschrank: eingestellt auf 150 ± 2 °C
5.11. pH-Indikatorpapier
5.12. Heizplatte
5.13. Filterpapier: Whatman Nr. 4 oder entsprechendes Fabrikat

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. 5 bis 10 g (M) der zu untersuchenden Probe, die etwa 50 bis 100 mg Zink enthalten, werden in ein 400-ml-Becherglas eingewogen, 50 ml destilliertes Wasser hinzugefügt und der Inhalt durchgemischt.

„6.1.1. Die Mischung wird erforderlichenfalls mit Hilfe einer Vakuumpumpe filtriert und das Filtrat gesammelt.

6.1.2. Die Extraktion wird nach Zugabe von 50 ml destilliertem Wasser wiederholt. Nach dem Filtrieren werden die Filtrate vereint".

6.2. Für je 10 mg in der Lösung (6.1) enthaltenes Zink werden 2 ml der 2-Methyl-8-oxychinolinlösung (4.7) zugegeben und erneut durchgemischt.

6.3. Nach dem Verdünnen mit 150 ml destilliertem Wasser wird die Lösung auf 60 °C erwärmt (5.12), dann werden unter Rühren 45 ml 0,2 molare Ammoniumacetatlösung (4.6) hinzugegeben.

6.4. Der pH-Wert der Lösung wird durch Einrühren von Ammoniaklösung (4.5) auf 5,7 bis 5,9 eingestellt; er wird mit pH-Indikatorpapier (5.11) kontrolliert.

6.5. Die Lösung wird 30 Minuten lang stehengelassen und danach mit einer Wasserstrahlpumpe durch eine zuvor bei 150 °C getrocknete und nach dem Abkühlen gewogene (M_0) Fritte (G 4) filtriert. Anschließend wird der in der Fritte gesammelte Niederschlag mit insgesamt 150 ml etwa 95 °C heißem destilliertem Wasser gewaschen.

6.6. Der Niederschlag wird in einem Trockenofen bei 150 °C eine Stunde lang getrocknet.

6.7. Nach der Trockenzeit wird die Fritte mit dem Niederschlag aus dem Trockenofen genommen und in einen Exsikkator (5.9) gestellt; nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wird deren Masse (M_1) bestimmt.

7. BERECHNUNG

Der Zinkgehalt der Probe wird in Massenprozenten (% m/m) nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Zink} = \frac{(M_1 - M_0) \times 17{,}12}{M};$$

hierbei ist:

M = Masse in Gramm der Probe (6.1),
M_0 = Masse in Gramm der leeren und getrockneten Fritte (6.5),
M_1 = Masse in Gramm der Fritte mit dem Niederschlag (6.7).

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Zinkgehalt von etwa 1 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen von 2 Parallelbestimmungen an der gleichen Probe 0,1 % nicht überschreiten.

Anlage 7

VII. NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG DER PHENOLSULFONSÄURE

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die qualitative und quantitative Bestimmung der Phenolsulfonsäure in kosmetischen Erzeugnissen, z. B. in Aerosolen und Gesichtswässern.

2. DEFINITION

Die nach dieser Vorschrift bestimmte Phenolsulfonsäure wird in Massenprozent als Zinkphenolsulfonsäure (wasserfreie Substanz) ausgedrückt, siehe Punkt 11.

(1) Siehe Norm ISO/DIS 5725.

3. PRINZIP

Der zu analysierende Teil der Probe wird unter vermindertem Druck eingeengt, in Wasser gelöst und mit Chloroform extrahiert. Die Bestimmung der Phenolsulfonsäure erfolgt bromo-jodometrisch in einem aliquoten Teil der gereinigten und filtrierten wässerigen Lösung.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Salzsäure, konz. 36 %ig (d_4^{20} = 1,18)
4.2. Chloroform
4.3. n-Butanol
4.4. Eisessig
4.5. Kaliumjodid
4.6. Kaliumbromid
4.7. Natriumcarbonat
4.8. Sulfanilsäure
4.9. Natriumnitrit
4.10. Kaliumbromatlösung: 0,1 N
4.11. Natriumthiosulfatlösung: 0,1 N
4.12. Stärkelösung: 1 %ig (m/v) in Wasser
4.13. Natriumcarbonatlösung: 2 %ig (m/v) in Wasser
4.14. Natriumnitritlösung: 4,5 %ig (m/v) in Wasser
4.15. Dithizonlösung: 0,05 %ig (m/v) in Chloroform
4.16. Fließmittel: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5), v); nach dem Mischen im Scheidetrichter wird die untere Phase verworfen.
4.17. Reagenz nach Pauly für die Dünnschichtchromatographie: 4,5 g Sulfanilsäure (4.8) werden in 45 ml konzentrierter Salzsäure (4.1) unter Erwärmen gelöst und die Lösung mit Wasser auf 500 ml verdünnt. 10 ml der Lösung werden in Eiswasser gekühlt und unter Rühren 10 ml klare Natriumnitritlösung (4.14) zugesetzt. Danach läßt man die Lösung ca. 15 Minuten bei 0 °C stehen — die Lösung ist bei dieser Temperatur 1 bis 3 Tage stabil; kurz vor dem Besprühen (7.5) werden 20 ml Natriumcarbonatlösung (4.13) hinzugegeben.
4.18. Zellulosebeschichtete Fertigplatten für die Dünnschichtchromatographie; Format 20 × 20 cm, Dicke der Sorbtionsschicht 0,25 mm.

5. GERÄTE

5.1. Rundkolben mit Schliff: 100 ml
5.2. Scheidetrichter: 100 ml
5.3. Erlenmeyerkolben mit Schliff: 250 ml
5.4. Bürette: 25 ml
5.5. Vollpipetten: 1, 2 und 10 ml
5.6. Meßpipette: 5 ml
5.7. Injektionsspritze: 10 µl mit 0,1 Mikroliterskala
5.8. Thermometer: Skala von 0 bis 100 °C
5.9. Wasserbad mit Heizung
5.10. Trockenofen: gut ventiliert und auf 80 °C eingestellt
5.11. Übliche Ausrüstung für die Dünnschichtchromatographie

6. PROBENVORBEREITUNG

Für die im folgenden beschriebene qualitative und quantitative Bestimmung der Phenolsulfonsäure in Aerosolen kann der Rückstand des Sprühdoseninhalts verwendet werden, der durch Abdestillation der flüchtigen Lösungs- und Treibmittel unter normalem Druck erhalten wird.

7. IDENTIFIZIERUNG

7.1. Auf der Startlinie — 1 cm über der unteren Kante der Dünnschichtplatte (4.18) — werden auf sechs Punkte mit einer Injektionsspritze (5.7) jeweils 5 µl des Rückstandes (6) oder der Probe aufgetragen.
7.2. Die Platte wird in eine Entwicklungskammer mit dem Fließmittel (4.16) eingesetzt und so lange entwickelt, bis die Fließmittelfront 15 cm über der Startlinie erreicht hat.
7.3. Dann wird die Platte aus der Entwicklungskammer genommen, bei 80 °C getrocknet, bis keine Essigsäuredämpfe mehr wahrnehmbar sind, anschließend mit Natriumcarbonatlösung (4.13) besprüht und an der Luft getrocknet.

7.4. Die eine Hälfte der Platte wird mit einer Glasplatte abgedeckt und der nicht abgedeckte Teil mit 0,05 %iger Dithizonlösung (4.15) besprüht. Zink-Ionen werden durch Bildung rotvioletter Flecke angezeigt.

7.5. Dann wird die bereits besprühte Hälfte mit Pauly-Reagens (4.17) besprüht. Die p-Phenolsulfonsäure (R_f-Wert etwa 0,26) wird als gelb-brauner, die m-Phenolsulfonsäure (R_f-Wert etwa 0,45) als gelber Fleck im Chromatogramm sichtbar.

8. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

8.1. 10 g der Probe oder des Rückstandes (6) werden in einen 100-ml-Rundkolben eingewogen und mittels eines Rotationsverdampfers im Vakuum im Wasserbad von 40 °C annähernd zur Trocknung eingeengt.

8.2. Danach werden 10,0 ml (V_1) Wasser in den Kolben einpipettiert und der Abdampfrückstand (8.1) in der Wärme gelöst.

8.3. Die Lösung wird in einen Scheidetrichter (5.2) quantitativ überführt und die wässerige Lösung zweimal mit jeweils 20 ml Chloroform (4.2) extrahiert; die Chloroformphase wird nach jeder Extraktion verworfen.

8.4. Die wässerige Lösung wird durch einen Papierfilter filtriert und je nach dem erwarteten Gehalt an Phenolsulfonsäure 1,0 oder 2,0 ml (V_2) des Filtrats in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben (5.3) eingegeben und mit destilliertem Wasser auf 75 ml verdünnt.

8.5. Anschließend werden 2,5 ml 36 %ige Salzsäure (4.1) sowie 2,5 g Kaliumbromid (4.6) zugefügt, durchgemischt und die Lösung im Wasserbad auf 50 °C erwärmt.

8.6. Aus einer Bürette wird so viel 0,1 N Kaliumbromatlösung (4.10) hinzugefügt, bis die Farbe der 50 °C warmen Lösung nach gelb umschlägt.

8.7. Nach dem Zusatz weiterer 3,0 ml Kaliumbromatlösung (4.10) wird der Kolben verschlossen und 10 Minuten in ein Wasserbad (50 °C) eingestellt. Sollte nach 10 Minuten die Gelbfärbung der Lösung verschwunden sein, werden weitere 2,0 ml Kaliumbromatlösung (4.10) in den Kolben gegeben, dieser erneut mit dem passenden Stopfen verschlossen und weitere 10 Minuten in das Wasserbad eingestellt. Die Gesamtmenge (a) der zugegebenen Kaliumbromatlösung ist festzuhalten.

8.8. Die Lösung wird auf Zimmertemperatur abgekühlt, 2 g Kaliumjodid (4.5) zugegeben und durchgemischt.

8.9. Das gebildete Jod wird mit 0,1 N Natriumthiosulfatlösung (4.11) titriert. Zum Abschluß der Titration werden einige Tropfen Stärkelösung (4.12) als Indikator zugesetzt. Die verbrauchte Menge Natriumthiosulfat (b) ist festzuhalten.

9. BERECHNUNG

Der Gehalt an Zinkphenolsulfonat der Probe oder des Rückstands (6) wird in Massenprozent (% m/m) mittels folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Zinkphenolsulfonat} = \frac{(a-b) \times V_1 \times 0{,}00514 \times 100}{m \times V_2};$$

hierbei ist

- a = Gesamtverbrauch in ml an 0,1 N Kaliumbromatlösung (8.7),
- b = Verbrauch an 0,1 N Natriumthiosulfatlösung für die Rücktitration in ml (8.9),
- m = Einwaage der Probe (des Rückstands) in g (8.1),
- V_1 = Volumen der nach 8.2 erhaltenen Lösung in ml,
- V_2 = Volumen des für die Analyse verwendeten gelösten Abdampfrückstands (8.4) in ml.

Bemerkung

Bei Aerosolen muß das Meßergebnis in % (m/m) des Rückstands (6) auf das ursprüngliche Erzeugnis umgerechnet werden.

10. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt von etwa 5 % Zinkphenolsulfonat darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen von 2 Parallelbestimmungen an der gleichen Probe nicht mehr als 0,5 % relativ betragen.

11. INTERPRETATION DER MESSERGEBNISSE

Nach der Richtlinie für kosmetische Mittel dürfen Gesichtswässer und Deodorantien höchstens 6 % (m/m) Zinkphenolsulfonat enthalten. Aufgrund dieser Vorschrift muß neben dem Gehalt an Phenolsulfonsäure auch der Gehalt an Zink bestimmt werden. Multipliziert man den berechneten (9) Gehalt an Zinkphenolsulfonat mit dem Faktor 0,1588, dann wird der Zinkgehalt in % (m/m) erhalten, der aufgrund des gemessenen Gehalts an Phenolsulfonsäure *mindestens* in dem Erzeugnis enthalten sein muß. Der tatsächliche, gravimetrisch bestimmte Zinkgehalt — siehe die entsprechende Vorschrift — kann jedoch höher sein, da zur Herstellung kosmetischer Mittel auch Zinkchlorid und/oder Zinksulfat verwendet werden darf.

(1) Siehe Norm ISO/DIS 5725.

Anlage 8

I. NACHWEIS VON OXIDATIONSMITTELN UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON WASSERSTOFFPEROXID IN HAARPFLEGEMITTELN

ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die jodometrische Bestimmung von Wasserstoffperoxid in Kosmetika ist nur bei Abwesenheit anderer Oxidationsmittel, die mit Jodid Jod bilden, möglich. Vor einer jodometrischen Bestimmung von Wasserstoffperoxid müssen daher etwaige andere anwesende Oxidationsmittel erkannt und nachgewiesen werden. Dieser Nachweis gliedert sich in zwei Teile; der erste Teil erfaßt die Persulfate, Bromate sowie Wasserstoffperoxid und der zweite Teil Bariumperoxid.

A. NACHWEIS VON PERSULFATEN, BROMATEN UND WASSERSTOFFPEROXID

1. PRINZIP

Natrium-, Kalium- und Ammoniumpersulfat; Kalium- und Natriumbromat sowie Wasserstoffperoxid — alles Stoffe, die sich nicht vom Bariumperoxid ableiten — werden mit Hilfe der absteigenden Papierchromatographie unter Verwendung von zwei Fließmitteln nachgewiesen.

2. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

2.1. Referenzlösungen von 0,5 % (m/v) in Wasser:

2.1.1. Natriumpersulfat

2.1.2. Kaliumpersulfat

2.1.3. Ammoniumpersulfat

2.1.4. Kaliumbromat

2.1.5. Natriumbromat

2.1.6. Wasserstoffperoxid

2.2. Fließmittel A: 80 %iges Äthanol (v/v)

2.3. Fließmittel B: Benzol — Methanol — Isoamylalkohol — Wasser (34 + 38 + 18 + 10) (v/v/v/v)

2.4. Sprühmittel A: 10 %ige Kaliumjodidlösung (m/v) in Wasser

2.5. Sprühmittel B: 1 %ige Stärkelösung (m/v) in Wasser

2.6. Sprühmittel C: 10 %ige Salzsäure (m/m)

2.7. Salzsäure: 4 N

3. GERÄTE UND HILFSMITTEL

3.1. Papier für die Chromatographie (Whatman-Papier Nr. 3 oder Nr. 4 oder gleichwertiges Papier)

3.2. Mikropipette 1 µl

3.3. Meßkolben 100 ml

3.4. Faltenfilter

3.5. Ausrüstung zur Durchführung der absteigenden Papierchromatographie

4. VORBEREITUNG DER PROBEN

4.1. **Wasserlösliche Erzeugnisse**

Von jedem Muster sind zwei Lösungen herzustellen, von denen bei der ersten 1 und bei der zweiten 5 Gramm des Erzeugnisses in 100 ml Wasser aufgelöst werden. Von jeder dieser Lösungen ist 1 Mikroliter für die Durchführung der unter Punkt 5 beschriebenen Papierchromatographie zu benutzen.

4.2. **Nicht vollkommen wasserlösliche Erzeugnisse**

4.2.1. 1 bzw. 5 Gramm der Probe werden gewogen und in 50 ml Wasser suspendiert, beide Suspensionen mit Wasser auf 100 ml auffüllen und gut durchschütteln. Beide Suspensionen werden filtriert und von jedem Filtrat ein Mikroliter zur Durchführung der unter 5 beschriebenen Chromatographie verwendet.

4.2.2. Es sind erneut von jeder Probe zwei Suspensionen anzufertigen, indem 1 bzw. 5 Gramm in 50 ml Wasser suspendiert, mit verdünnter Salzsäure (2.7) angesäuert, mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt und durchmischt werden. Die Suspensionen werden filtriert und ein Mikroliter von beiden Filtraten zur Durchführung der unter 5 beschriebenen Papierchromatographie verwendet.

4.3. **Cremes**

Von jedem Erzeugnis werden 5 g und 20 g in je 100 ml Wasser suspendiert und die Suspensionen zur Durchführung der unter 5 beschriebenen Papierchromatographie verwendet.

5. ARBEITSWEISE

5.1. Zwei Chromatographiegefäße zur Durchführung der absteigenden Papierchromatographie mit einer geeigneten Menge des Fließmittels A (2.2) und B (2.3) füllen. Die Chromatographiegefäße werden wenigstens 24 Stunden lang mit den Dämpfen der Fließmittel gesättigt.

5.2. Auf einen 40 cm langen und 20 cm breiten Papierstreifen Whatman-Papier Nr. 3 (3.1) — dieser kann auch ein anderes geeignetes Format haben — auf je einen Startpunkt 1 µl der gemäß 4 und 2.1 zubereiteten Probe- und Referenzlösung auftragen und das Lösungsmittel an der Luft verdampfen lassen.

5.3. Das Chromatographiepapier (5.2) in das mit dem Fließmittel A (5.1) gefüllte Chromatographiegefäß hängen und chromatographieren, bis sich die Fließmittelfront in einem Abstand von 35 cm von der Startlinie befindet. Die hierzu erforderliche Laufzeit beträgt ungefähr 15 Stunden.

5.4. Die Vorgänge gemäß 5.2 und 5.3 mit Whatman-Papier Nr. 4 (oder gleichwertiges Papier) (3.1) und Fließmittel B wiederholen. Chromatographieren, bis die Fließmittelfront 35 cm von der Startlinie beträgt. Die hierzu erforderliche Zeit beträgt ungefähr 5 Stunden.

5.5. Nach Entwicklung werden die Papierstreifen aus den Chromatographiegefäßen herausgenommen und an der Luft getrocknet.

5.6. Die Verbindungen werden auf dem Chromatogramm durch Besprühen mit Dedektionsmitteln auf dem Papierstreifen sichtbar gemacht. Dabei ist wie folgt vorzugehen:

5.6.1. Zunächst mit Sprühmittel A (2.4) und kurz danach mit Sprühmittel B (2.5) besprühen. Zunächst erscheinen die Flecke der Persulfate und danach die des Wasserstoffperoxids auf dem Chromatogramm. Die Flecke sind mit Bleistift zu markieren.

5.6.2. Mit Sprühmittel C (2.6) werden die nach 5.6.1 erhaltenen Chromatogramme besprüht. Vorhandene Bromate werden auf dem Chromatogramm als grau-blaue Flecke sichtbar.

5.7. R_f-Werte der Vergleichssubstanzen (2.1) unter den oben beschriebenen Bedingungen für die Fließmittel A (2.2) und B (2.3):

	Fließmittel A (2.2)	*Fließmittel B (2.3)*
Natriumpersulfat	0,40	0,10
Kaliumpersulfat	0,40	0,02 + 0,05
Ammoniumpersulfat	0,50	0,10 + 0,20
Natriumbromat	0,40	0,20
Kaliumbromat	0,40	0,10 + 0,20
Wasserstoffperoxid	0,80	0,80

B. NACHWEIS VON BARIUMPEROXID

1. PRINZIP

Bariumperoxid wird wie folgt nachgewiesen: Papierchromatographisch als Wasserstoffperoxid nach dem Ansäuern der Probe (A.4.2);

— sofern keine Persulfate vorhanden sind (A), durch Hinzufügen von verdünnter Schwefelsäure in einen Teil der sauren Probelösung (B.4.1). Es entsteht ein weißer Bariumsulfatniederschlag. Barium-Ionen werden in der Probelösung (4.1) papierchromatographisch nach der unten beschriebenen Methode (5) nochmal nachgewiesen;

— falls Bariumperoxid und Persulfate gleichzeitig vorhanden sind (B.4.2), ist der Rückstand der Lösung alkalisch aufzuschließen und in HCl zu lösen. Der Nachweis von Barium-Ionen (B.4.2.3) erfolgt sowohl papierchromatographisch als auch durch Fällung als Bariumsulfat.

2. REAGENZIEN

2.1. Methanol

2.2. 36 %ige (m/m) konzentrierte Salzsäure

2.3. Salzsäure 6 N

2.4. Schwefelsäure 4 N

2.5. Dinatriumrhodizonat

2.6. Bariumchlorid ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$)

2.7. Natriumcarbonat, wasserfrei

2.8. 1 %ige Bariumchloridlösung in Wasser (m/v)

2.9. Fließmittel: Methanol/36 %ige Salzsäure/Wasser (80+10+10) (v/v/v/)

2.10. Sprühmittel: 0,1 %ige Dinatriumrhodizonatlösung in Wasser (m/v); die Lösung ist kurz vor Gebrauch frisch herzustellen.

3. GERÄTE UND HILFSMITTEL

3.1. Mikropipette 5 µl

3.2. Platintiegel

3.3. Meßkolben 100 ml

3.4. Chromatographiepapier (Schleicher und Schüll 2043 b, oder gleichwertiges). Zur Vorbereitung ist das Papier eine Nacht lang absteigend mit dem Fließmittel (B.2.9) zu chromatographieren (A.3.5) und danach zu trocknen.

3.5. Faltenfilter

3.6. Ausrüstung für die aufsteigende Papierchromatographie

4. VORBEREITUNG DER PROBEN

4.1. **Erzeugnisse, in denen keine Persulfate enthalten sind**

4.1.1. 2 Gramm des Erzeugnisses werden in 50 ml Wasser suspendiert (auflösen). Der pH-Wert der Lösung wird mit Salzsäure auf etwa 1 eingestellt (B.2.3).

4.1.2. Die Lösung (Suspension) wird mit Wasser in einen 100-ml-Meßkolben überführt, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gemischt. Die Lösung wird, wie unter 5 beschrieben, papierchromatographisch untersucht.

4.2. **Erzeugnisse, die Persulfate enthalten**

4.2.1. 2 Gramm des Erzeugnisses werden in 100 ml Wasser suspendiert (auflösen) und filtriert.

4.2.2. In einem Platintiegel (B.3.2) wird dem getrockneten Rückstand das Sieben- bis Zehnfache seines Gewichts an Natriumcarbonat hinzugefügt (B.2.7), durchgemischt und so lange erhitzt, bis eine Schmelze entsteht (30 min.).

4.2.3. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Schmelze wird in 50 ml Wasser suspendiert und filtriert (B.3.5).

4.2.4. Der Schmelzrückstand wird in 6 N Salzsäure (B.2.3) aufgelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Diese Lösung wird für die nachstehend beschriebene papierchromatographische Analyse und für die Identifizierung der Bariumionen durch Fällung als Bariumsulfat verwendet.

5. ARBEITSWEISE

5.1. In ein Chromatographiegefäß für aufsteigende Papierchromatographie wird eine geeignete Menge Fließmittel (B.2.9) gegeben und das Gefäß wenigstens 15 Stunden lang mit den Dämpfen des Fließmittels gesättigt.

5.2. Auf ein — in der in Punkt (B.3.4) beschriebenen Weise vorbehandeltes — Stück Chromatographiepapier werden auf drei Startpunkte jeweils 5 µl der unter (B.4.1.2) und (B.4.2.4) hergestellten Lösungen und der Referenzlösung (B.2.8) gegeben.

5.3. Das Lösungsmittel an der Luft verdampfen lassen. Es wird aufsteigend chromatographiert, bis die Fließmittelfront 30 cm erreicht hat.

5.4. Das Chromatographiepapier ist aus der Chromatographierschale zu nehmen und an der Luft zu trocknen.

5.5. Die Flecke im Chromatogramm durch Aufsprühen des Sprühmittels (B.2.10) auf das Chromatogramm sichtbar machen.

Ist Barium vorhanden, so entstehen rote Flecke mit einen Rf-Wert von ungefähr 0,10.

C. DIE BESTIMMUNG VON WASSERSTOFFPEROXID

1. PRINZIP

Die jodometrische Bestimmung von Wasserstoffperoxid verläuft nach der folgenden Reaktion:

$$H_2O_2 + 2H^+ + 2J^- \longrightarrow J_2 + 2H_2O.$$

Diese langsam verlaufende Umsetzung wird durch Ammoniummolybdat beschleunigt. Das gebildete Jod wird mit Natriumthiosulfatlösung titrimetrisch bestimmt und ist ein Maß für den Gehalt an Wasserstoffperoxid.

2. DEFINITION

Der auf nachstehende Weise gemessene Wasserstoffperoxidgehalt wird in Massen-Prozent (% m/m) der Ware ausgedrückt.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Schwefelsäure 2 N

3.2. Kaliumjodid

3.3. Ammoniummolybdat

3.4. Natriumthiosulfatlösung 0,1 N

3.5. 10 %ige Kaliumjodidlösung (m/v). Die Lösung kurz vor Gebrauch frisch herstellen.

3.6. 20 %ige Ammoniummolybdatlösung (m/v)

3.7. 1 %ige Stärkelösung (m/v)

4. GERÄTE UND HILFSMITTEL

4.1. Bechergläser 100 ml

4.2. Bürette 50 ml

4.3. Meßkolben 250 ml

4.4. Meßzylinder 25 und 100 ml

4.5. geeichte Pipette 10 ml

4.6. Erlenmeyerkolben 250 ml

5. ARBEITSWEISE

5.1. 10 Gramm (m) des Erzeugnisses, das ungefähr 0,6 Gramm Wasserstoffperoxid enthält, werden in ein 100-ml-Becherglas eingewogen, mit Wasser in einen 250-ml Meßkolben überspült, bis zum Eichstrich mit Wasser aufgefüllt und gemischt.

5.2. Von der Probelösung (5.1) werden 10 ml in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben (4.6) pipettiert und nacheinander 100 ml Schwefelsäure 2 N (3.1), 20 ml Kaliumjodidlösung (3.5) sowie drei Tropfen Ammoniummolybdatlösung (3.6) hinzugefügt.

5.3. Das gebildete Jod wird unmittelbar mit 0,1 N (3.4) Natriumthiosulfatlösung titriert. Kurz vor Erreichen des Äquivalenzpunktes sind einige Milliliter Stärkelösung als Indikator hinzuzufügen. Den in ml (V ml) ausgedrückten Verbrauch an 0,1 N Natriumthiosulfatlösung notieren.

5.4. In der Weise wie unter 5.2 und 5.3 angegeben, ist eine Blindbestimmung durchzuführen, bei der anstelle der 10 ml Probelösung 10 ml Wasser verwendet werden. Den Verbrauch an 0,1 N Natriumthiosulfatlösung bei der Blindbestimmung (Vo ml) notieren.

6. BERECHNUNG

Der Gehalt an Wasserstoffperoxid der Ware in Gewichts-Prozent (% m/m) wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Wasserstoffperoxid} = \frac{(V - Vo) \times 1{,}7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1\,000} \text{ oder}$$

$$\% \text{ Wasserstoffperoxid} = \frac{(V - Vo) \times 4{,}252}{m}$$

In dieser Formel bedeuten:

m = die Menge der untersuchten Ware in Gramm (5.1),

Vo = den in ml ausgedrückten Verbrauch an Natriumthiosulfatlösung bei der Blindbestimmung (5.4),

V = den in ml ausgedrückten Verbrauch an 0,1 N Natriumthiosulfatlösung bei der Titration der Probelösung (5.3).

7. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Unter den oben beschriebenen Umständen beträgt die Standardabweichung der Meßergebnisse bei einer Probe, die ungefähr 6 % (m/m) Wasserstoffperoxid enthält, höchstens 0,2 %.

---

(1) Siehe Norm ISO 5725.

Anlage 9

II. NACHWEIS UND HALBQUANTITATIVE BESTIMMUNG VON OXIDIERENDEN FARBSTOFFEN IN HAARFÄRBEMITTELN

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Nach dieser Methode lassen sich nachstehend aufgeführte Substanzen in cremeförmigen und flüssigen Haarfärbemitteln nachweisen und halbquantitativ bestimmen:

Bezeichnung der Substanzen	Symbol
Phenylendiamine	
1-2 Phenylendiamin (o)	(OPD)
1-3 Phenylendiamin (m)	(MPD)
1-4 Phenylendiamin (p)	(PPD)
Toluylendiamine	
3-4 Toluylendiamin (o)	(OTD)
2-4 Toluylendiamin (m)	(MTD)
2-5 Toluylendiamin (p)	(PTD)
Diaminophenol	
2-4 Diaminophenol	(DAP)
Hydrochinon	
1-4 Dihydroxybenzol	(H)
α-Naphthol	(N)
Pyrogallol	
1-2-3 Trihydroxybenzol	(P)
Resorcin	
1-3 Dihydroxybenzol	(R)

2. PRINZIP

Die oxidierenden Farbstoffe werden den cremeförmigen oder flüssigen Färbemitteln bei einem pH-Wert von 10 mit Hilfe von 96 %igem Äthanol entzogen und dünnschichtchromatographisch (eindimensional (5) und/oder zweidimensional (6)) identifiziert.

Zur halbquantitativen Bestimmung der Substanzen vergleicht man das chromatographische Bild der Proben unter Anwendung von vier Entwicklungssystemen mit denjenigen der Lösungen der chromatographisch bestimmten Vergleichserzeugnisse.

3. REAGENZIEN

Es sind ausschließlich analysenreine Reagenzien zu verwenden.

3.1. absolutes Äthanol

3.2. Aceton

3.3. Äthanol 96° (v/v)

3.4. 25 %iges Ammoniak ($d_4^{20} = 0{,}91$)

3.5. L(+)-Ascorbinsäure

3.6. Chloroform

3.7. Cyclohexan

3.8. technischer Stickstoff

3.9. Toluol

3.10. Benzol

3.11. primäres Butanol

3.12. sekundäres Butanol

3.13. 50 %ige unterphosphorige Säure

3.14. Diazoreagenzien: hier können verwendet werden

— 4-Nitro-1-benzoldiazon, versalzen und stabilisiert durch (beispielsweise) Chlorbenzolsulfonat-Ion (rouge 2 JN von Francolor oder ähnliches),

— 2-Chloro-4nitro-1-benzoldiazon, versalzen und stabilisiert durch (beispielsweise) Naphthalinbenzoat-Ion (NNCD Reagens — Nr. 74150 von Fluka oder ähnliches).

3.15. Silbernitrat

3.16. p-Dimethylaminobenzaldehyd

3.17. 2-5-Dimethylphenol

3.18. Ferrochlorid 6 H_2O

3.19. 10 %ige Salzsäure

3.20. **Vergleichssubstanzen**

Als Vergleichssubstanzen dienen die im Abschnitt 1 „Zweck und Anwendungsbereich" aufgeführten Stoffe.

Amino-Verbindungen sind ausschließlich als Mono- oder Bi-Chlorhydrate oder in basischer Form zu verwenden.

3.21. **Vergleichslösungen** (0,5 % m/v)

Von jeder der in 3.20 genannten Vergleichssubstanzen wird eine 0,5 %ige (m/v) Lösung hergestellt.

50 mg ± 1 mg der Vergleichssubstanz werden in einen 10-ml-Meßkolben eingewogen.

5 ml 96 %iges Äthanol hinzugeben (3.3).

250 mg Ascorbinsäure hinzugeben (3.5).

Die Mischung mit Hilfe einer Ammoniaklösung (3.4) auf einen pH-Wert von 10 bringen.

Mit 96 %igem Äthanol auf 10 ml auffüllen und mischen.

Die Lösungen können eine Woche lang an einem kühlen, lichtgeschützten Ort aufbewahrt werden.

Bei der Zugabe der Ascorbinsäure und des Ammoniaks kann sich in bestimmten Fällen ein Niederschlag bilden. In diesem Fall empfiehlt sich vor der Probenahme eine Dekantierung.

3.22. **Laufmittel**

3.22.1. Aceton – Chloroform – Toluol: 35–25–40 (v/v/v)

3.22.2. Chloroform – Cyclohexan – Absolutes Äthanol – 25 %iges Ammoniak: 80–10–10–1 (v/v/v/v)

3.22.3 Benzol – Sekundäres Butanol – Wasser: 50–25–25 (v/v/v). Die Mischung gut schütteln und nach Dekantierung bei Raumtemperatur (20—25 °C) die oberste Phase abnehmen.

3.22.4. Primäres Butanol – Chloroform und Reagens M: 7–70–23 (v/v/v). Bei 20 bis 25 °C sorgfältig dekantieren und die untere Phase verwenden.

Vorbereitung des Reagens M

25 %ige NH_4OH (v/v) (3.4) ..... 24 Teile

50 %ige unterphosphorige Säure (3.13) ..... 1 Teil

H_2O ..... 75 Teile

Anmerkung

Laufmittel, die Ammoniak enthalten, müssen vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden.

3.23. **Nachweismittel**

3.23.1. *Diazoreagens*

Eine 5 %ige wäßrige Lösung (m/v) des Reagens (3.14) herstellen. Diese Lösung muß unmittelbar vor ihrer Verwendung hergestellt werden.

3.23.2. *Reagens nach Ehrlich*

2 g p-Dimethylaminobenzaldehyd (3.16) in 100 ml 10 %iger wäßriger Salzsäure (m/v) auflösen (3.19).

3.23.3. *2-5-Dimethylphenol-Ferrochlorid 6 H_2O*

Lösung 1: 1 g Dimethylphenol (3.17) in 100 ml 96 %igem Äthanol auflösen (3.3).

Lösung 2: 4 g Ferrochlorid 6 H_2O (3.18) in 100 ml 96 %igem Athanol auflösen (3.3).

Bei Durchführung des Nachweises die beiden Lösungen einzeln aufsprühen, und zwar zunächst Lösung 1 und dann Lösung 2.

3.23.4. *Ammoniakalisches Silbernitrat*

Einer 5 %igen wäßrigen Lösung (m/v) von Silbernitrat (3.15) 25 %iges Ammoniak (3.4) zusetzen, bis sich der Niederschlag auflöst.

Dieses Reagens ist unmittelbar vor seiner Verwendung herzustellen. Nicht aufbewahren!

4. GERÄTE

4.1. Laboratoriumsausrüstung für Dünnschichtchromatographie

4.1.1. Kunststoff- oder Glasschale, in der die chromatographische Platte während der Absitzung und bis zur Ausentwicklung unter Stickstoff gehalten werden kann. Diese Vorsichtsmaßnahme ist wegen der starken Oxidierbarkeit bestimmter Farbstoffe notwendig.

4.1.2. 10-µl-Spritze (0,2-l-Einteilung) mit Nadel (gerades Ende) oder vorzugsweise ein automatisches Auftraggerät (50 µl), derart am Stativ befestigt, daß die Platte unter Stickstoff gehalten werden kann.

4.1.3. Kieselgel-Fertigplatten von 0,25 mm Dicke auf Kunststoffilm 20 = 20 cm (Macherey und Nagel Kieselgel G-HR oder ähnliches).

4.2. Zentrifuge 4 000 U/min.

4.3. Zentrifugierröhrchen 10 ml mit Schraubverschluß.

5. ARBEITSWEISE

5.1. **Vorbehandlung der Proben**

Die aus der Tubenöffnung austretenden ersten 2 oder 3 cm Creme werden entfernt.

In ein vorher mit Stickstoff durchspültes Zentrifugierröhrchen (4.3) werden 300 mg Ascorbinsäure, 6 g Creme oder 3 g homogenisierte Flüssigkeit gegeben.

Liegt der pH-Wert unter 10, so werden einige Tropfen des 25 %igen Ammoniaks hinzugefügt und das Zentrifugierröhrchen mit 96 %igem Äthanol (3.3) auf 10 ml aufgefüllt.

Unter Stickstoff homogenisieren, das Röhrchen verschließen und 10 Minuten lang bei 4 000 U/min. zentrifugieren.

Die obenschwimmende Lösung verwenden.

5.2. **Chromatographie**

5.2.1. *Auftragen*

Unter Stickstoff auf eine Kieselgelplatte (4.1.3) an neun Punkten 1 µl von jeder der beschriebenen Vergleichslösungen auftragen. Diese werden wie folgt verteilt:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	α-N							

Außerdem werden jeweils am 10. und am 11. Punkt 2 µl der nach 5.1 vorbehandelten Proben aufgetragen.

Die Platte bis zur chromatographischen Trennung unter Stickstoff aufbewahren.

5.2.2. *Entwicklung*

Die Platte wird in einen vorher mit Stickstoff gereinigten und mit den Dämpfen eines der vier geeigneten Lösungsmittel (3.22) gesättigten Behälter eingehängt und bei Raumtemperatur und Dunkelheit so lange entwickelt, bis sich die Lösungsmittelfront etwa 15 cm vom Startpunkt entfernt hat.

Nunmehr die Platte herausnehmen und unter Stickstoff bei Raumtemperatur trocknen.

5.2.3. *Nachweis*

Die Platte mit einem der in 3.23 genannten vier Nachweismittel besprühen.

5.2.4. *Identitätsprüfung*

Man vergleicht die Rf und die an jeder Probe erhaltenen Färbungen mit denen der Vergleichssubstanzen. In Tabelle I sind die Rf und Färbungen angegeben, wie sie mit den einzelnen Lauf- und Nachweismitteln für jede Probe erzielt wurden.

Läßt die Identitätsprüfung Zweifel aufkommen, so kann zuweilen dadurch Klarheit erzielt werden, daß man der Probe die entsprechende Vergleichssubstanz hinzufügt.

5.2.5. *Halbquantitative Bestimmung*

Man vergleicht visuell die Intensität der Flecken der einzelnen nach 5.2.4 nachgewiesenen Substanzen mit einer geeigneten und bekannten anhand der entsprechenden Vergleichssubstanz gewonnenen Standardkonzentration.

Ist die Konzentration des Bestandteils der Probe zu hoch, so muß die zu chromatographierende Lösung verdünnt und eine neue Bestimmung vorgenommen werden.

TABELLE I

Rf-Werte und unmittelbar nach der Entwicklung erzielte Färbungen

Vergleichs-erzeugnisse 3.20	Laufmittel				Nachweismittel			
	Rf				Färbungen			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Diazoreagenz (3.23.1)	Reagenz nach Ehrlich (3.23.2)	Dimethylphenol-Reagenz (3.23.3)	Silbernitrat-Reagenz (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	schwach braun	—	—	schwach braun
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	braun-violett*)	gelb	schwach braun	schwach braun
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	braun	hochrot*)	violett	grau
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	braun*)	schwach orange	schwach braun	braun-grau
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	rotbraun*)	gelb	braun	schwarz
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	braun	orange	violett*)	grau
DAP	0,07	—	0	0,05	braun*)	orange	violett	braun
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	orange	violett	schwarz*)
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	braun-orange	—	violett*)	schwarz
P	0,37	—	0,67	0,05	braun	sehr helles violett	sehr helles braun	braun*)
R	0,50	0,37	0,80	0,17	orange*)	schwach violett	sehr helles braun	schwach braun

Anmerkungen: 1. OPD wurde nur schwach sichtbar, für eine deutliche Trennung von OTD muß das Lösungsmittel (3.22.3) verwendet werden.

2. *) zeigt den besten Nachweis an.

6. ZWEIDIMENSIONALE DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG

Zu der hier beschriebenen zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie werden nachstehende Reagenzien gebraucht:

6.1. **Vergleichssubstanzen und -lösungen**

6.1.1. β-Naphthol (β-N)

6.1.2. 2-Aminophenol (OAP)

6.1.3. 3-Aminophenol (MAP)

6.1.4. 4-Aminophenol (PAP)

6.1.5. 2-Nitro-p-Phenylendiamin (2 NPPD)

6.1.6. 4-Nitro-o-Phenylendiamin (4 NOPD)

Von diesen zusätzlichen Vergleichssubstanzen wird eine 0,5 %ige Lösung (m/v) nach 3.2.1 hergestellt.

6.2. **Laufmittel**

6.2.1. 25 %iges Äthylacetat-Cyclohexan-Ammoniak (65–35–0,50) (v/v/v)

6.3. **Nachweismittel**

Ein Glasgefäß in einen Entwicklungsbehälter für Dünnschichtchromatographie bringen, etwa 2 g kristallisiertes Jod hineingeben und den Behälter schließen.

6.4. **Chromatographie**

6.4.1. Wie auf Figur 1 angegeben, zwei Linien auf der Adsorptionsschicht einer dünnschichtchromatographischen Platte einzeichnen (4.1.3).

6.4.2. Unter Stickstoff (4.1.1) auf den Startpunkt 1 (Figur 1) bis 4 µl Extrakt (5.1) auftragen. Die Menge hängt von der Intensität der auf dem Chromatogramm (5.2) erhaltenen Flecken ab.

6.4.3. Die nachgewiesenen beziehungsweise nach Punkt 5.2 vermeintlich nachgewiesenen oxidierenden Farbstoffe je zur Hälfte auf die Punkte 2 und 3 (Figur 1) auftragen. Der Abstand zwischen diesen Punkten beträgt 1,5 cm. Von sämtlichen Referenzlösungen mit Ausnahme von DAP 2 µl auftragen, von DAP werden 6 µl benötigt. Dies muß in Stickstoffatmosphäre geschehen.

6.4.4. Den unter 6.4.3 beschriebenen Vorgang bei den Startpunkten 4 und 5 (Figur 1) wiederholen und die Platte bis zur Durchführung der Chromatographie in Stickstoffatmosphäre aufbewahren.

6.4.5. Einen Chromatographierbehälter mit Stickstoff durchblasen und eine geeignete Menge Entwicklungslösung (3.22.2) einfüllen. Die Platte (6.4.4) in den Behälter stellen und bei Dunkelheit in der ersten Laufrichtung chromatographieren (Figur 1). Solange chromatographieren bis die Lösungsmittelfront mindestens 13 cm durchlaufen hat.

6.4.6. Die Platte aus dem Behälter nehmen und zur Verdampfung der Lösungsmittelreste wenigstens 60 Minuten lang in den mit Stickstoff ausgeblasenen Behälter legen.

6.4.7. Mit einem mit Meßskala versehenen Reagenzglas eine geeignete Menge des Laufmittels (6.2.1) in einem mit Stickstoff ausgeblasenen Behälter eingeben, dann die im Verhältnis zur ersten Elutionsrichtung um 90° gedrehte Platte in den Behälter einsetzen und in der zweiten Richtung bei Dunkelheit chromatographieren, bis die Lösungsmittelfront die auf der absorbierenden Schicht markierte Linie erreicht. Die Platte aus dem Behälter nehmen und das Lösungsmittel an der Luft verdampfen lassen.

6.4.8. Die Platte 10 Minuten lang in einem Chromatographierbehälter Joddämpfen (6.3) aussetzen und das zweidimensionale Chromatogramm anhand der zur gleichen Zeit chromatographierten Vergleichssubstanzen auswerten (Tabelle II).

Anmerkung

Die intensivste Färbung der Flecken erhält man, wenn man das Chromatogramm eine halbe Stunde lang nach der Entwicklung der Luft aussetzt.

6.4.9. Der Nachweis der nach 6.4.8 gefundenen oxidierenden Farbstoffe läßt sich zweifelsfrei dadurch erbringen, daß man die in 6.4.1 bis 6.4.8 einschließlich beschriebene Behandlung wiederholt, wobei man auf den Startpunkt 1 neben die in 6.4.2 vorgeschriebene Extraktmenge 1 µl der in 6.4.8 nachgewiesenen Vergleichssubstanz aufbringt.

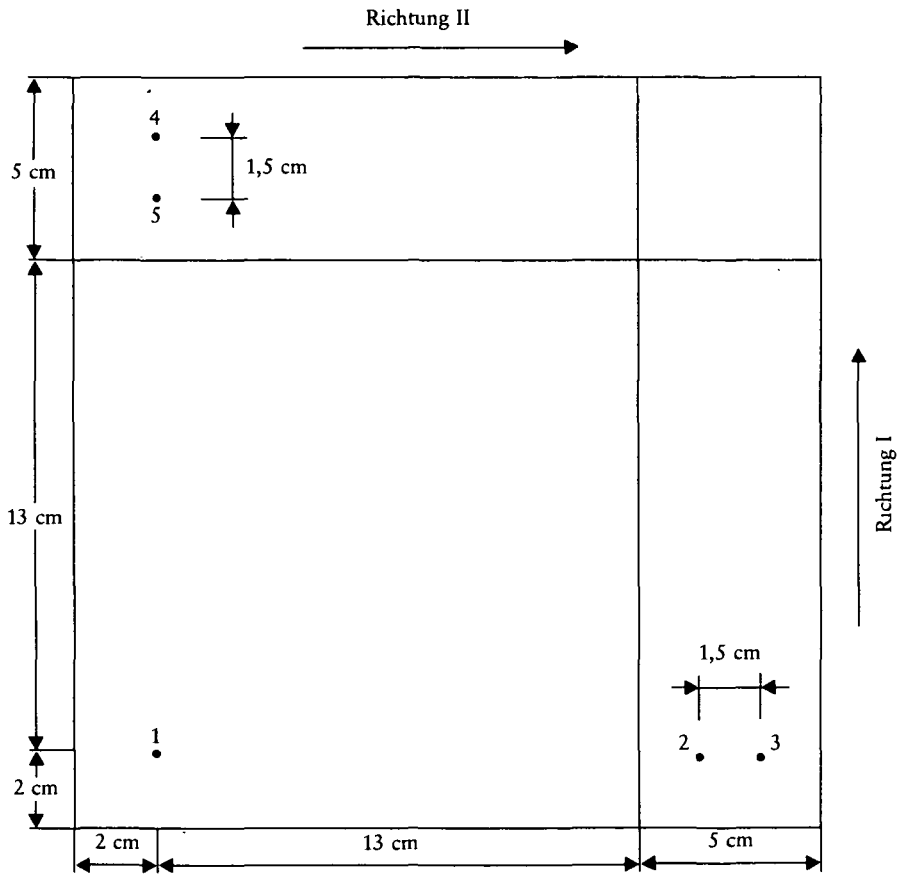
Läßt sich kein anderer Fleck feststellen, so stimmt die Auswertung des ersten Chromatogramms.

TABELLE II

Farben der Vergleichssubstanzen nach Chromatographie und Nachweis durch Joddämpfe

Vergleichs-substanzen	Farbe nach dem Nachweis durch Joddämpfe
R	beige
P	braun
α-N	violett
β-N	hellbraun
H	braun-violett
MPD	gelbbraun
PPD	braun-violett
MTD	dunkelbraun
PTD	gelbbraun
DAP	dunkelbraun
AOP	orange
MAP	gelbbraun
PAP	braun-violett
2-NNPD	braun
4-NOPD	orange

Figur 1



Anlage 10

III. NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON NITRIT

A. NACHWEIS

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode kann zum Nachweis von Nitrit in kosmetischen Erzeugnissen verwendet werden, insbesondere in Cremes, Salben und Zahnpasten.

2. PRINZIP DER METHODE

Nitrit wird durch die Bildung von gefärbten Reaktionsprodukten von 2-Aminobenzaldehyd-phenylhydrazon (Nitrin) nachgewiesen.

3. REAGENZIEN

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

3.1. Verdünnte Schwefelsäure: Verdünne 2 ml konzentrierte Schwefelsäure (d_4^{20} = 1,84) 11 ml destilliertem Wasser.

3.2. Verdünnte Salzsäure: Verdünne 1 ml konzentrierte Salzsäure (d_4^{20} = 1,19) mit 11 ml destilliertem Wasser.

3.3. Methanol

3.4. Lösung von 2-Aminobenzaldehyd phenylhydrazon (Nitrin) in Methanol.

Wiege 2 g Nitrin in einen 100-ml-Meßkolben. Füge tropfenweise 4 ml verdünnte Salzsäure (3.2) hinzu und schüttle. Fülle bis zur Marke mit Methanol auf und mische bis die Lösung völlig klar ist. Die Lösung wird in einer braunen Glasflasche aufbewahrt (4.3).

4. GERÄTE

4.1. Becherglas 50 ml

4.2. 100-ml-Meßkolben

4.3. 125 ml braune Glasflasche

4.4. Glasplatte, 10 × 10 cm

4.5. Kunststoffspatel

4.6. Filtrierpapier, 10 × 10 cm

5. DURCHFÜHRUNG

5.1. Verstreiche einen Teil der zu untersuchenden Probe gleichmäßig auf der Glasplatte, bis zu einer Dicke von nicht mehr als 1 cm.

5.2. Tränke ein Blatt Filterpapier (4.6) in destilliertem Wasser, lege dieses auf die Probe und drücke das Filterpapier mit einem Plastikspatel an (4.5).

5.3. Warte einige Minuten und benetze die Mitte des Filterpapiers:

erst mit 2 Tropfen verdünnter Schwefelsäure (3.1),

dann mit 2 Tropfen von der Nitrinlösung (3.4).

5.4. Nach 5 bis 10 Sekunden entferne das Filtrierpapier und betrachte es gegen Tageslicht. Die Anwesenheit von Nitrit wird durch eine purpurrote Färbung angezeigt.

Bei niedrigen Nitritkonzentrationen verändert sich die purpurrote Farbe nach 5 bis 15 Sekunden in gelb. Wenn hohe Nitritkonzentrationen vorhanden sind, tritt die Farbveränderung erst nach 1 bis 2 Minuten ein.

6. BEMERKUNG

Die Intensität der purpurroten Farbe und die Zeit bis zur Farbveränderung gibt einen Hinweis auf den Nitritgehalt der Probe.

B. BESTIMMUNG

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die Bestimmung von Nitrit in kosmetischen Erzeugnissen.

2. BEGRIFFSBESTIMMUNG

Der Nitritgehalt der Probe, bestimmt nach dieser Methode, wird in % (m/m) Natriumnitrit angegeben.

3. PRINZIP DER METHODE

Die Probe wird mit Wasser verdünnt und geklärt. Das Nitrit wird mit Sulfanilamid und N-1-Naphthyläthylen-Diamin in Reaktion gebracht und die entstehende Färbung bei 538 nm gemessen.

4. REAGENZIEN

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

4.1. Klärlösungen: Diese Lösungen sind wöchentlich frisch herzustellen.

4.1.1. Carrez-I-Reagenz:

106 g Kaliumzyanoferrat (II), $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ in destilliertem Wasser auflösen und auf 1 000 ml verdünnen.

4.1.2. Carrez-II-Reagenz:

219,5 g Zinkazetat, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ und 30 ml Eisessig in destilliertem Wasser auflösen und auf 1 000 ml verdünnen.

4.2. Natriumnitritlösung:

0,500 g Natriumnitrit in destilliertem Wasser auflösen und auf 1 000 ml verdünnen. Danach 10 ml dieser Stammlösung auf 500 ml verdünnen. 1 ml Lösung = 10 Mikrogramm $NaNO_2$.

4.3. 1 N Natriumhydroxidlösung:

4,0 g NaOH in destilliertem Wasser auflösen und auf 100 ml verdünnen.

4.4. 0,2 %-Sulfanilamid-Hydrochloridlösung:

2,0 g Sulfanilamid in 800 ml Wasser durch Erwärmen auflösen. Abkühlen, 100 ml konzentrierte Salzsäure unter Rühren hinzufügen und auf 1 000 ml verdünnen.

4.5. 5-n-Salzsäure:

445 ml konzentrierte Salzsäure ($d_4^{20} = 1{,}18$) mit Wasser auf 1 000 ml verdünnen.

4.6. N-1-Naphthyläthylendiamin-Dihydrochloridreagenz (Naphthylreagenz):

Die Lösung ist täglich frisch herzustellen.

0,1 g N-1-Naphthyläthylendiamin-Dihydrochlorid in Wasser auflösen und auf 100 ml verdünnen.

5. GERÄTE UND HILFSMITTEL

5.1. Analytische Waage

5.2. 100-, 250-, 500- und 1 000-ml-Meßkolben

5.3. Vollpipetten oder Meßpipetten

5.4. 100-ml-Meßzylinder

5.5. Faltenfilter, nitritfrei, Durchmesser 15 cm

5.6. Wasserbad

5.7. Spektrophotometer mit 1-cm-Küvetten

5.8. pH-Meßgerät

5.9. 10-ml-Mikrobürette

5.10. 250-ml-Becherglas

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. Wiege ungefähr 5 g der homogenisierten Probe auf 0,1 mg genau ein. Überführe sie mit heißem destilliertem Wasser quantitativ in einen 250-ml-Kolben und bringe das Volumen auf ungefähr 150 ml mit heißem destilliertem Wasser. Erwärme den Kolben 1/2 Stunde lang in einem Wasserbad von 80 °C. Während dieser Zeit ist gelegentlich umzuschütteln.

6.2. Kühle auf Raumtemperatur ab und füge nacheinander unter Umrühren 2 ml Carrez I (4.1.1) und 2 ml Carrez II (4.1.2) zu.

6.3. Bringe mit 1-N-Natronlauge (4.3) auf pH 8,3 (pH-Meßgerät benutzen). Überführe den Inhalt quantitativ in einen 250-ml-Meßkolben und fülle zur Marke mit destilliertem Wasser auf.

6.4. Vermische den Inhalt und filtriere durch ein Faltenfilter (5.5).

6.5. Pipettiere einen angemessenen aliquoten Teil (V ml) des klaren Filtrats, aber nicht mehr als 25 ml, in einen 100-ml-Meßkolben und fülle destilliertes Wasser bis zu einem Volumen von 60 ml hinzu.

6.6. Nach dem Durchmischen füge 10 ml Sulfanilamid-Hydrochloridlösung (4.4) und dann 6 ml der 5-n-Salzsäure (4.5) zu. Mische und lasse 5 Minuten stehen. Füge 2 ml des N-1-Naphthyläthylendiaminreagenz (4.6) hinzu, mische und lasse 3 Minuten stehen. Fülle bis zur Marke mit Wasser auf und schüttele durch.

6.7. Zur Herstellung einer Blindprobe wiederhole die Operationen nach 6.5 und 6.6 ohne Hinzufügung des N-1-Naphthylreagenz (4.6).

6.8. Bestimme (5.7) die Extinktion bei 538 nm, dabei ist der Blindwert nach 6.7 als Vergleich zu verwenden.

6.9. Entnehme aus der Eichkurve (6.10) den Natriumnitritgehalt in Mikrogramm pro 100 ml der Lösung (m_1 Mikrogramm), die der nach 6.8 gemessenen Extinktion entspricht.

6.10. Unter Verwendung der 10 µg/ml Natriumnitritlösung (4.2) wird eine Eichkurve für die Konzentrationen 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg Natriumnitrit pro 100 ml hergestellt.

7. BERECHNUNG

Berechne den Gehalt an Natriumnitrit in % (m/m) nach folgender Formel:

$$\% \ NaNO_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

Dabei bedeuten

m = Masse der für die Untersuchung eingesetzten Probemenge in g (6.1),

m_1 = Natriumnitritgehalt in Mikrogramm, ermittelt nach 6.9,

V = ml-Filtrat verwendet für die Messung (6.5).

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Für einen Gehalt von ungefähr 0,2 % m/m Natriumnitrit darf die Differenz zwischen zwei Parallelbestimmungen den absoluten Wert von 0,005 % nicht überschreiten.

(1) Siehe Norm ISO 5725.

Anlage 11

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES FREIEN FORMALDEHYDS

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt den qualitativen Nachweis und die quantitative Bestimmung des Formaldehyds in allen kosmetischen Erzeugnissen ; sie umfaßt drei Teile :

1.1. **Nachweis**

1.2. **Bestimmung der Gesamtmenge durch Kolorimetrie mit Pentan-2,4-Dion (Acetylaceton) :**

Diese Methode ist anwendbar, wenn das Formaldehyd einzeln oder mit anderen Konservierungsstoffen, die kein Formaldehyd abspalten, verwendet wird.

Im gegenteiligen Fall und falls das Ergebnis die im Fertigerzeugnis zulässige Höchstkonzentration übersteigt, ist die folgende Methode zur Bestätigung anzuwenden :

1.3. **Quantitative Bestimmung bei Anwesenheit von Formaldehyd-abspaltenden Stoffen :**

Zunächst ist das freie Formaldehyd vom gebundenen oder polymerisierten Formaldehyd durch Flüssigkeitschromatografie zu trennen. Anschließend ist die Menge nach der vorstehend beschriebenen Methode durch Kolorimetrie zu bestimmen.

2. BEGRIFFSBESTIMMUNG

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an freiem Formaldehyd, ist in Prozent (m/m) anzugeben.

3. NACHWEIS DES FREIEN UND GEBUNDENEN FORMALDEHYDS

3.1. **Prinzip**

Freies und gebundenes Formaldehyd ergeben in schwefelsaurem Milieu in Anwesenheit von Schiffs-Reagenz eine rosa oder lila Färbung.

3.2. **Reagenzien**

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden..

3.2.1. Fuchsin

3.2.2. Natriumsulfithydrat mit 7 H_2O

3.2.3. Konzentrierte Chlorwasserstoffsäure (d = 1,19)

3.2.4. Schwefelsäure, etwa 2 n

3.2.5. Schiffs-Reagenz

In ein Becherglas 100 mg Fuchsin (3.2.1) einwiegen und mit 75 ml auf 80 °C erwärmtem Wasser auflösen. Nach dem Abkühlen 2,5 g Natriumsulfit (3.2.2) und 1,5 ml Chlorwasserstoffsäure (3.2.3) hinzugeben, auf 100 ml auffüllen. Aufbewahrung 2 Wochen.

3.3. **Durchführung**

3.3.1. In ein 10ml-Becherglas ca. 2 g der Probe einfüllen.

3.3.2. Zwei Tropfen H_2SO_4 (3.2.4) und 2 ml Schiffs-Reagenz (3.2.5) hinzufügen. Dieses Reagenz muß zum Zeitpunkt der Anwendung absolut farblos sein. Schütteln, 5 Minuten stehenlassen.

3.3.3. Wird nach 5 Minuten eine rosa oder lila Färbung festgestellt, so liegt die enthaltene Formaldehydmenge über 0,01 %.

Das freie und gebundene Formaldehyd ist nach Punkt 4 und, wenn nötig, nach Punkt 5 quantitativ zu bestimmen.

4. BESTIMMUNG DER GESAMTMENGE DURCH KOLORIMETRIE MIT PENTAN-2,4-DION (ACETYLACETON)

4.1. **Prinzip**

Das Formaldehyd reagiert mit Pentan-2,4-dion in Anwesenheit von Ammoniumacetat unter Bildung von 3,5-Diacetyl-1,4-Dihydrolutidin. Dieses ist mit 1-Butanol zu extrahieren und die Absorption bei 410 nm zu messen.

4.2. **Reagenzien**

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

4.2.1. Ammoniumacetat, wasserfrei

4.2.2. Konzentrierte Essigsäure

4.2.3. Frisch unter vermindertem Druck 25 mm Hg25° destilliertes Pentan-2,4-dion (Acetylaceton), das bei 410 nm keinerlei Absorption ergeben darf.

4.2.4. 1-Butanol

4.2.5. n-Chlorwasserstoffsäure

4.2.6. Chlorwasserstoffsäure, etwa 0,1 n

4.2.7. n-Natriumhydroxid

4.2.8. Stärkelösung, frisch hergestellt nach Ph. Eur., (1 g/50 ml Wasser). Zweite Ausgabe 1980, Teil I-VII-1-1.

4.2.9. Formaldehyd, 37-40 %ig

4.2.10. 0,1-n-Jodlösung (genau eingestellt).

4.2.11. 0,1-n-Natriumthiosulfatlösung (genau eingestellt).

4.2.12. *Acetylaceton-Reagenz*

In einem 1 000-ml Meßkolben lösen :

— 150 g Ammoniumacetat (4.2.1),

— 2 ml Acetylaceton (4.2.3),

— 3 ml Essigsäure (4.2.2).

Mit Wasser (pH der Lösung etwa 6,4) auf 1 000 ml auffüllen.
Dieses Reagenz ist stets frisch herzustellen.

4.2.13. Reagenz (4.2.12) ohne Acetylaceton.

4.2.14. *Formaldehyd-Stammlösung*

In eine 1 000 ml-Meßflasche 5 g Formaldehyd (4.2.9) eingeben und auf 1 000 ml auffüllen.

Bestimmung des Gehalts dieser Lösung: Hierzu 10,00 ml entnehmen, 25,00 ml eingestellter Jodlösung (4.2.10) und 10 ml Natriumhydroxidlösung (4.2.7) hinzugeben.

5 Minuten stehenlassen.

11 ml n-HCL (4.2.5) sowie eine Stärkelösung als Indikator hinzugeben und den Überschuß der Jodlösung mittels eingestellter Natriumthiosulfatlösung (4.2.11) titrieren.

Der Verbrauch von 1 ml 0,1-n-Jodlösung entspricht 1,5 ml HCHO.

4.2.15. *Formaldhyd-Vergleichslösung*

Mit entmineralisiertem Wasser zuunächst eine Lösung 1 : 20 und hiervon eine Lösung 1 : 100 herstellen.

1 ml dieser Lösung enthält etwa 1 µg Formaldehyd.

Der genaue Gehalt ist zu berechnen.

4.3. **Geräte**

4.3.1. Übliches Laborgerät.

4.3.2. „Phasentrennungs"-Filter WHATMAN 1 PS (oder ein gleichwertiger Filter).

4.3.3. Zentrifuge.

4.3.4. Wasserbad, 60 °C.

4.3.5. Spektrophotometer.

4.3.6. 1-cm-Glasküvetten.

4.4. **Durchführung**

4.4.1. *Probelösung*

In einen 100-ml-Meßkolben auf 0,001 g genau eine Probenmenge (in g), die einer vermuteten Menge von etwa 150 µ HCHO entspricht, einwiegen. Mit entmineralisiertem Wasser auf 100 ml auffüllen (S-Lösung).

(Überprüfen, ob der pH nahe bei 6 liegt, sonst in Chlorwasserstoffsäurelösung (4.2.6) verdünnen).

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben mit der Pipette eingeben :

— 10,00 ml der S-Lösung,

— 5,00 ml Pentan-2,4-dion Reagenz (4.2.12), mit entmineralisiertem Wasser auf 30 ml auffüllen.

4.4.2. *Vergleichslösung*

Die eventuelle Interferenz einer Grundfärbung in der Versuchsprobe für den Versuch ist wie folgt zu beseitigen :

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben eingeben :

— 10,0 ml S-Lösung,

— 5,0 ml Reagenz (4.2.13), mit entmineralisiertem Wasser auf 30 ml auffüllen.

4.4.3. *Blindlösung*

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben eingeben : 5,0 ml Pentan-2,4-dion-Reagenz (4.2.12) und mit entmineralisiertem Wasser auf 30 ml auffüllen.

4.4.4. *Quantitative Bestimmung*

4.4.4.1. Die Erlenmeyerkolben nach 4.4.1, 4.4.2 und 4.4.3 schütteln und 10 Minuten lang in ein Wasserbad von 60 °C eintauchen. Zwei Minuten in einem Kühlbad abkühlen lassen.

4.4.4.2. Den Inhalt jeweils in einen 50-ml-Scheidetrichter, der genau 10 ml 1-Butanol (4.2.4) enthält, überführen.

Mit 3-5 ml Wasser nachspülen ; die Mischung genau 30 Sekunden kräftig schütteln, dann abtrennen.

4.4.4.3. Die Butanol-Phase über „Phasentrennungs"-Filter (4.3.2) in die Meßküvetten filtrieren.

Auch das Zentrifugieren (3 000 g, 5 Min. lang) ist möglich.

4.4.4.4. Die Absorption A_1 der Probenlösung nach (4.4.1) gegen den Extrakt der Vergleichslösung nach (4.4.2) bei 410 nm messen.

4.4.4.5. Entsprechend die Absorption A_2 der Blindlösung nach (4.4.3) gegen 1-Butanol messen.

Anmerkung : Sämtliche Arbeitsgänge sind innerhalb von 25 Minuten nach dem Eintauchen des Erlenmeyerkolbens in das 60 °C-Wasserbad durchzuführen.

4.4.5. *Eichkurve*

4.4.5.1. In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben eingeben :

— 5,00 ml der verdünnten Stammlösung (4.2.14),

— 5,00 ml Acetylaceton-Reagenz (4.2.12), mit entmineralisiertem Wasser auf 30 ml auffüllen.

4.4.5.2. Weiter nach (4.4.4.5) verfahren ; die Absorption gegen 1-Butanol (4.2.4) messen.

4.4.5.3. Das Verfahren mit 10, 15, 20, 25 ml verdünnter Stammlösung (4.2.14) wiederholen.

4.4.5.4. Den Nullwert (entsprechend der Färbung der Reagenzien) wie in (4.4.4.5) bestimmen.

4.4.5.5. Die Eichkurve nach Substraktion des Null-Wertes von den Absorptionswerten nach (4.4.5.1) und (4.4.5.3) zeichnen. Das Beersche Gesetz gilt bis 30 µg Formaldehyd.

4.5. **Darstellung der Ergebnisse**

4.5.1. A_2 von A_1 abziehen und aus der Eichkurve (4.4.5.5) die in der Lösung (4.4.1) enthaltene und in µg Formaldehyd ausgedrückte Menge C ablesen.

4.5.2. Den Formaldehydgehalt der Probe (% m/m) nach folgender Formel berechnen :

$$\% \text{ HCHO} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

m = Masse der Probenahme in g.

4.6. **Wiederholbarkeit** (1)

Bei einem Formaldehydgehalt von 0,2 % darf die Differenz der Ergebnisse von zwei parallel durchgeführten quantitativen Bestimmungen 0,005 % bei der kolorimetrischen Methode mit Acetylaceton nicht überschreiten.

Falls die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung des freien Formaldehyds über den in der Verordnung über das Verbot und die Beschränkung von Stoffen für kosmetische Mittel, BGBl. Nr. 339/1994 i. d. j. g. F., festgelegten Werten liegen, d. h.:

a) zwischen 0,05 % und 0,2 % bei einem Produkt, bei dem der Formaldehydgehalt nicht auf dem Etikett angegeben ist,

b) über 0,2 % bei einem Produkt, bei dem der Formaldehydgehalt angegeben bzw. nicht angegeben ist,

ist nach der unter Punkt 5 beschriebenen Methode zu verfahren.

5. QUANTITATIVE BESTIMMUNG BEI ANWESENHEIT VON FORMALDEHYD-ABSPALTENDEN STOFFEN

5.1. **Prinzip**

Das freie Formaldehyd ist durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie abzutrennen. Um eine Spaltung der HCHO-abspaltenden Stoffe bei der Derivatisierung zu vermeiden, ist vorher eine Flüssigkeitschromatographie durchzuführen ; das abgespaltene Formaldehyd ist durch Kettenreaktion mit dem Acetylaceton in einem Nach-Säulen-Reaktor in gelbes Lutidin-Derivat umzuwandeln ; das entstandene Derivat ist durch Absorption bei 420 nm nachzuweisen.

5.2. **Reagenzien**

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

5.2.1. Baker-Wasser oder Wasser gleichwertiger Qualität.

5.2.2. Ammoniumacetat, wasserfrei.

5.2.3. Konzentrierte Essigsäure.

5.2.4. Acetylaceton (bei 4 °C aufzubewahren).

5.2.5. Dinatriumphosphat, wasserfrei.

5.2.6. Orthophosphorsäure, 85 % (d = 1,7)

5.2.7. Methanol, Spektrographie-Qualität.

5.2.8. Dichlormethan, Spektrographie-Qualität.

5.2.9. Formaldehyd, 37 - 40 %ig.

5.2.10. n-Natriumhydroxid.

5.2.11. n-Chlorwasserstoffsäure.

5.2.12. 0,002-Chlorwasserstoffsäure.

5.2.13. Stärkelösung.

5.2.14. 0,1 n-Jodlösung (genau eingestellt).

5.2.15. 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung (genau eingestellt).

5.2.16. *Mobile Phase :*

0,006 M Dinatriumphosphat (5.2.5) in wässriger Lösung auf pH 2,1 eingestellt mit Orthophosphorsäure (5.2.6).

5.2.17. *Nach-Säulen-Reagenz*

In einem 1 000-ml-Meßkolben lösen :

— 62,6 g Ammoniumacetat (5.2.2),

— 7,5 ml Essigsäure (5.2.3),

— 5 ml Acetylaceton (5.2.4)

Mit Wasser (5.2.1) auf 1 000 ml auffüllen.

Unter Lichtabschluß aufbewahren.

Haltbarkeit : 3 Tage.

5.2.18. *Formaldehyd-Stammlösung*

In eine 1 000-ml-Meßflasche 10 g Formaldehyd (5.2.9) eingeben und auf 1 000 ml auffüllen.

Bestimmung des Gehalts dieser Lösung : hierzu 5,00 ml entnehmen, 25 ml eingestellte Jodlösung (5.2.14) und 10 ml Natriumhydroxidlösung (5.2.10) hinzugeben.

Fünf Minuten stehenlassen.

11 ml n-HCL (5.2.11) sowie eine Stärkelösung als Indikaktor hinzugeben und den Überschuß der Jodlösung mittels Natriumthiosulfatlösung (5.2.15) titrieren.

Der Verbrauch von 1 ml 0,1-n-Jodlösung entspricht 1,5 mg Formaldehyd.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

5.2.19. *Formaldehyd-Vergleichslösung*

Von der Stammlösung in der mobilen Phase (5.2.16) eine Lösung $^1/_{100}$ herstellen.

1 ml dieser Lösung enthält etwa 37 µg Formaldehyd. Der genaue Gehalt ist zu berechnen.

5.3. **Geräte**

5.3.1. Übliches Laborgerät.

5.3.2. Eine pulsationsfreie HPLC-Pumpe (Applied Biosystems Pumpe, oder gleichwertige Pumpe)

5.3.3. Eine pulsationsfreie Niederdruckpumpe für das Reagenz (oder eine zweite HPLC-Pumpe, wie unter 5.3.2)

5.3.4. Ein Einspritzventil mit einer Schleife von 10 µl (Valco oder gleichwertiges Einspritzventil)

5.3.5. Ein nach-Säulen-Modul (Applied Biosystems PCRS 520 oder gleichwertiges Modul) mit einem 1-ml-Reaktor

oder

Ein 1-l-Kolben mit drei Rohransätzen RIN 3

+ 1-l-Kolbenheizgerät
+ zwei Vigreux-Kolonnen 10 Böden 2 RIN 3 (luftgekühlt)
+ rostfreies Rohr (für den thermischen Austausch) 1,6 mm - Innendurchmesser 0,23 mm, L = 400 mm
+ Teflonrohr 1,6 mm - Innendurchmesser 0,30 mm. L = 5 m (siehe Anlage 2)
+ 1 T-Stück ohne Totvolumen (Valco oder gleichwertiges T-Stück)
+ 3 UNION-Verbindungsstücke ohne Totvolumen.

5.3.6. Acrodisch ^{R}CR 0,45 µ Filter (Gelman oder gleichwertiger Filter)

5.3.7. SEP PAK^RC_{18}-Hülse (Waters oder gleichwertige Hülse)

5.3.8. *Fertigsäulen:*

— Bischoff hypersil RP 18 (Typ NC Bezugsnummer C 25.46 1805)
(5 µ - L = 250 mm - Innendurchmesser = 4,6 mm)

— oder Dupont, Zorbax ODS
(5 µ - L = 250 mm - Innendurchmesser = 4,6 mm)

— oder Phase SEP, spherisorb ODS 2
(5µ - L = 250 mm - Innendurchmesser = 4,0 mm).

5.3.9. *Vorschaltsäule:*

— Bischoff K$_1$hypersil RP 18 (Bezugsnummer K1 G 6301 1805)
5µ - L = 10 mm, oder gleichwertig

5.3.10. Säule und Vorschaltsäule sind durch ein ECOTUBE-System (Bezugsnummer A 15020508 Bischoff) oder ein gleichwertiges System zu verbinden.

5.3.11. Der Aufbau erfolgt nach dem als Anlage 2 beigefügten Schema.

Die Verbindungsstücke hinter dem Einspritzventil müssen so kurz wie möglich sein.

Bei Verwendung von (5.3.6) dient das rostfreie Rohr zwischen Reaktorausgang und Detektoreingang zur Kühlung des Gemisches vor dem Nachweis.

In diesem Fall ist die in dem Detektor herrschende Temperatur unbekannt aber konstant (Länge und Durchmesser des Rohres konstant, Durchfluß konstant, Temperatur oberhalb konstant 100 °C, konstante Raumtemperatur während der gesamten Zeit der quantitativen Bestimmung).

5.3.12. Detektor, UV, sichtbar.

5.3.13. Aufzeichnungsgerät.

5.3.14. Zentrifuge.

5.3.15. Ultraschall-Bad.

5.3.16. Vibrationsmischer (Typ Vortex oder gleichwertiger Vibrationsmischer).

5.4. **Durchführung**

5.4.1. *Eichkurve*

Die Standardlösungen werden durch Verdünnung der Formaldehyd-Vergleichslösung (5.2.19) mit der mobilen Phase (5.2.16) hergestellt.

— 1 ml der Standardlösung (5.2.18) verdünnt auf 20 ml (ungefähr 185 µg/100 ml),
— 2 ml der Standardlösung (5.2.18) verdunnt auf 20 ml (ungefähr 370 µg/100 ml),
— 5 ml der Standardlösung (5.2.18) verdünnt auf 25 ml (ungefähr 740 µg/100 ml),
— 5 ml der Standardlösung (5.2.18) verdünnt auf 20 ml (ungefähr 925 µg/100 ml).

Die Standardlösungen sind eine Stunde lang bei Labortemperatur aufzubewahren und müssen frisch hergestellt sein.

Die Linearität der Eichkurve gilt fur Konzentrationen von 1,0 bis 15 µg pro ml.

5.4.2. *Herstellung der Proben*

5.4.2.1. Emulsionen (Cremes, Grundierungen, Eyeliner)

In eine Stöpselflasche eine Masse (m) von ungefähr 0,001 g der Versuchsprobe (in g) einwiegen, die einer vermuteten Formaldehydmenge von ungefähr 100 µg entspricht.

20 ml Dichlormethan und 20 ml Chlorwasserstoffsäure (5.2.12) genau abgemessen hinzufügen.

Im Vibrationsmischer (5.3.16) und im Ultraschallbad (5.3.15) vermischen.

Die zwei Phasen durch Zentrifugieren (3 000 g in 2 min) trennen.

Eine Hülse (5.3.7) mit 2 ml Methanol (5.2.7) ausspülen, dann mit 5 ml Wasser (5.2.1) konditionieren.

4 ml der wässrigen Phase des Extraktes durch die Hülse (5.3.7) fließen lassen, die ersten zwei ml abgießen und den folgenden Teil auffangen.

5.4.2.2. *Lotionen, Shampoos*

Eine einer vermuteten Formaldehydmenge von ungefähr 500 µg entsprechende Masse (m/einer Probe für den Versuch in g) auf 0,001 g genau einwiegen.

Mit der mobilen Phase (5.2.16) auf 100 ml auffüllen.

Die Lösung durch einen Filter (5.3.6) filtrieren und durch eine Hülse (5.3.7), die wie oben vorbereitet wurde, einspritzen bzw. fließen lassen.

Alle Lösungen sind sofort nach der Zubereitung einzuspritzen.

5.4.3. *Bedingungen für die Chromatographie*

— Durchsatz der mobilen Phase : 1 ml pro Minute,

— Durchsatz des Reagenz : 0,5 ml pro Minute,

— Gesamtdurchsatz am Ausgang des Detektors : 1,5 ml pro Minute,

— eingepritzte Menge : 10 µl

— Eluierungstemperatur : bei schwierigen Trennvorgängen unbedingt 0 °C. Dazu die Säule in Eiswasser eintauchen : Temperaturausgleich abwarten,

— Temperatur bei der nach-Säulen-Reaktion : 100 °C

— Erfassung : 420 nm

Anmerkung : Das gesamte Chromatographie- und nach-Säulensystem ist nach Gebrauch mit Wasser auszuspülen. Wird das System mehr als zwei Tage nicht benutzt, ist nach dieser Spülung eine Spülung mit Methanol vorzunehmen. Vor einer erneuten Konditionierung des Systems ist mit Wasser zu spülen, um Rekristallisierungen zu vermeiden.

5.5. **Berechnung**

Emulsionen :

Formaldehydgehalt in % (m/m) :

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{5 \cdot m} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{5 \cdot m}$$

m = Masse der für die Untersuchung eingesetzten Probemenge in Gramm (5.4.2.1),

C = aus der Eichkurve (5.4.1) abgelesener Formaldehydgehalt in µg/100 ml.

Lotionen, Shampoos :

Es gilt folgende Formel :

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{m} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{m}$$

5.6. **Wiederholbarkeit** (1)

Bei einem Formaldehydgehalt von 0,05 % darf die Differenz der Ergebnisse von zwei parallel durchgeführten quantitativen Bestimmungen derselben Probemenge 0,001 % nicht überschreiten. Bei einem Formaldehydgehalt von 0,2 % darf die Differenz der Ergebnisse von zwei parallel durchgeführten quantitativen Bestimmungen derselben Probemenge 0,005 % nicht überschreiten.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

Anlage I

ANFERTIGUNG DER „SCHLANGE"

ZUBEHÖR FÜR DIE HERSTELLUNG DER „SCHLANGE"

— 1 Holzspule :

Außendurchmesser : 5 cm, in der Mitte wird ein 1,5 cm großes Loch gebohrt. Vier Stahlspitzen werden in gleichmäßigen Abständen angebracht (siehe Schema der Spule Abbildung 1 und Abbildung 2). Abstand zwischen zwei Spitzen : 1,8 cm ; Abstand vom Mittelloch : 0,5 cm,

— 1 feste Nadel (Typ Häkelnadel) zur Herstellung der Schlaufen aus dem Teflon-Rohr,

— Teflon-Rohr 1,6 mm — Innendurchmesser 0,3 mm — Länge : 5 Meter.

HERSTELLUNG DER „SCHLANGE"

Zu Beginn wird das Teflon-Rohr von oben nach unten in das Mittelloch der Spule geführt (dabei ca. 10 cm des Rohres auf der unteren Seite heraushängen lassen, so daß sich die Kordel während der Herstellung leicht nach unten ziehen läßt), dann für die erste Runde das Rohr um jede der vier Spitzen wickeln (siehe Abbildung 3).

Am Eingang und am Ausgang des Gerätes werden Zwingen und Kompressionsschrauben angebracht, es ist darauf zu achten, daß das Teflon beim Umwickeln nicht beschädigt wird.

Ab der zweiten Reihe wird das Rohr außen um jede Spitze gelegt und dann wie folgt eine Schlaufe gebildet :

Mit Hilfe der festen Nadel (siehe Abbildung 4) das Rohr der unteren Reihe über das Rohr der oberen Reihe heben.

Dieser Vorgang ist an jeder der Spitzen unter Einhaltung der Reihenfolge 1 — 2 — 3 — 4 bis zu einer Kordellänge von 5 Metern bzw. bis zur gewünschten Länge zu wiederholen.

Etwa 10 cm des Rohres werden zum Abschluß der Kordel benötigt. Das Rohr durch jede der 4 Schlaufen führen und zum Abschluß der Kordel leicht zusammenziehen.

Spule

Abbildung 1

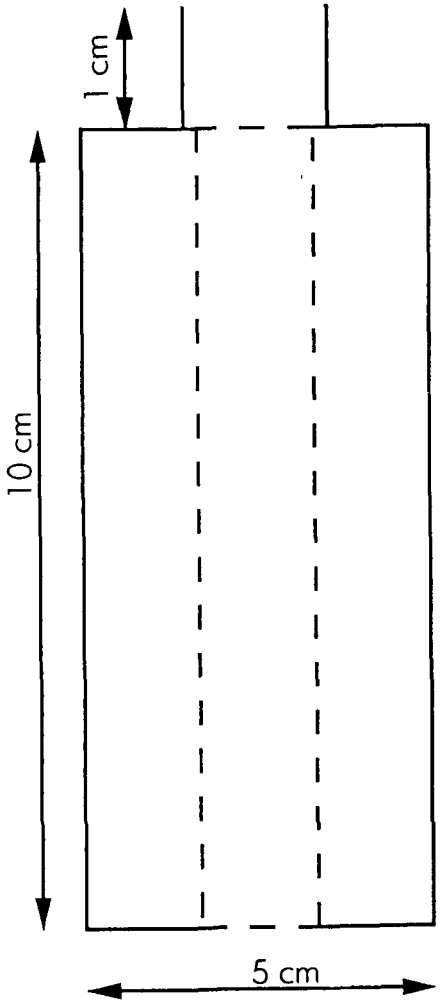


Abbildung 2

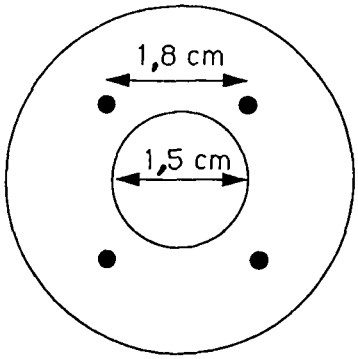
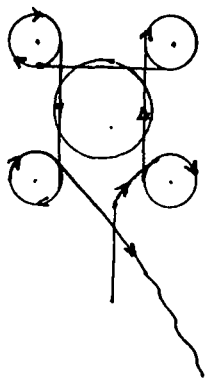
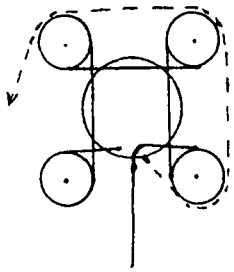


Abbildung 3



1. Reihe

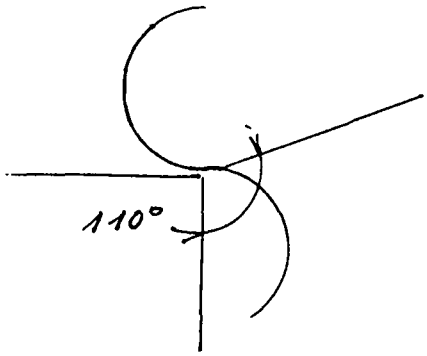
Abbildung 4



2. Reihe

Für die Schlaufe den unteren Schlauch (durchgezogene Linie) über den oberen Schlauch (gestrichelte Linie) heben.

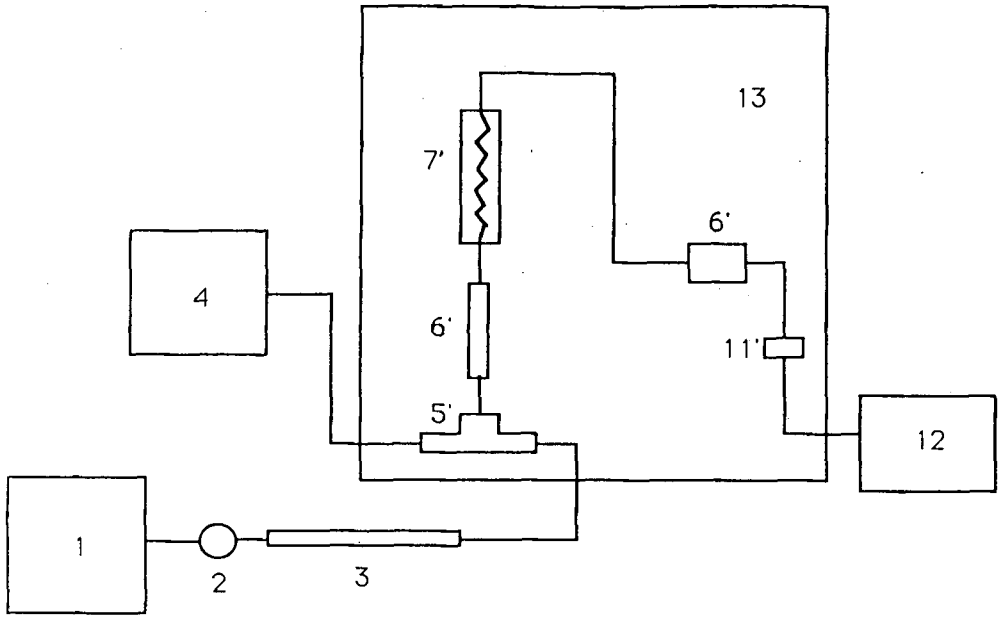
Abbildung 5



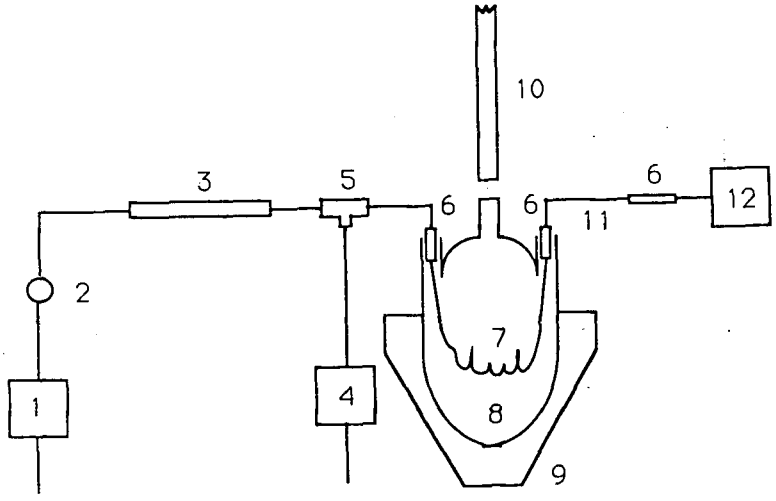
Anlage II

1 = HPLC-Pumpe (5.3.2.)
2 = Einspritzventil (5.3.4.)
3 = Säule mit Vorsäule
4 = Reagenz-Pumpe (5.3.3.)
5 = T-Stück ohne Totvolumen
5' = T-Stück (Vortex)
6-6' = Union-Verbindungsstück ohne Totvolumen
7 = Strickschlauch
7' = Reaktor
8 = Dreihalskolben mit siedendem Wasser
9 = Kolbenheizgerät
10 = Kühler
11 = Edelstahlkapillare — Wärmeaustauscher
11' = Wärmeaustauscher
12 = Detektor UV/VIS
13 = Nachsäulen-Modul PCRS 520

5.3.5.



5.3.6.



Eluant Reagenz"

Anlage 12

BESTIMMUNG DES RESORCINGEHALTS IN SHAMPOOS UND HAARLOTIONEN

1. ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode beschreibt die gaschromatographische Bestimmung von Resorcin in Shampoos und Haarlotionen. Sie ist für Konzentrationen von 0,1 bis 2,0 Prozent (m/m) im Erzeugnis geeignet.

2. DEFINITION

Der Resorcingehalt in Prozent (m/m) wird durch die Resorcinmenge in der Probelösung definiert, die durch Gaschromatographie unter den festgelegten Bedingungen bestimmt wird.

3. PRINZIP

Resorcin und 3,5-Dihydroxytoluol, das als interner Standard hinzugefügt wurde, werden durch Dünnschichtchromatographie isoliert. Beide Verbindungen werden nach Auskratzen der Dünnschichtplatte mit Methanol extrahiert. Schließlich werden die extrahierten Verbindungen getrocknet, silyliert und durch Gaschromatographie bestimmt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Salzsäure 25 % (m/m)

4.2. Methanol

4.3. Äthanol 96 % (v/v)

4.4. Kieselgel-Fertigplatten (Kunststoff oder Aluminium) mit fluoreszierendem Indikator und wie folgt entaktiviert: Fertigplatten mit Wasser besprühen, bis sie glänzen. Die besprühten Platten bei Raumtemperatur 1 bis 3 Stunden lang trocknen.

Anmerkung: Wenn die Platten nicht entaktiviert sind, können durch irreversible Adsorption auf Silicium Resorcinverluste auftreten.

4.5. Fließmittel; Azeton-Chloroform-Essigsäure (20-75-5) (v/v/v)

4.6. Resorcin-Standardlösung; 400 mg Resorcin in 100 ml Äthanol 96 % auflösen (1 ml entspricht 4 000 µg Resorcin).

4.7. Interne Standardlösung; 400 mg 3,5-Dihydroxytoluol (DHT) in 100 ml Äthanol 96 % (1 ml entspricht 4 000 µg DHT) lösen.

4.8. Standardmischung; 10 ml der Lösung 4.6 und 10 ml der Lösung 4.7 in einem 100-ml-Meßkolben mischen, bis zur Markierung mit Äthanol 96 % auffüllen und mischen (1 ml entspricht 400 µg Resorcin und 400 µg DHT).

4.9. Silylierungsmittel:

4.9.1. N, 0-bis-(Trimethylsilyl)-Trifluorazetamid (BSTFA)

4.9.2. Hexamethyldisilazan (HMDS)

4.9.3. Trimethylchlorsilan (TMCS)

5. GERÄTE

5.1. Übliche Laborgeräte sowie Dünnschicht- und Gaschromatographieausrüstung

5.2. Laborglas

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. **Vorbereitung der Probe**

6.1.1. Eine Prüfmenge (m Gramm) des Produkts, das etwa 20 bis 50 mg Resorcin enthält, genau in einen 150-ml-Becher einwiegen.

6.1.2. Mit Salzsäure (4.1) ansäuern, bis die Mischung sauer ist (ca. 2 bis 4 ml sind notwendig), 10 ml (40 mg DHT) der internen Standardlösung (4.7) hinzufügen und vermischen. In einen 100-ml-Meßkolben mit Äthanol (4.3) geben, mit Äthanol bis zur Markierung auffüllen und vermischen.

6.1.3. 250 µl der Lösung 6.1.2 als kontinuierliche Linie von etwa 8 cm Länge auf eine entaktivierte Silicafolie (4.4) auftragen.

Darauf achten, ein möglichst schmales Band zu erhalten.

6.1.4. 250 µl der Standardmischung (4.8) in gleicher Weise (6.1.3) auf die gleiche Platte auftragen.

6.1.5. An zwei Punkten der Startlinie 5 µl von jeder der Lösungen 4.6 und 4.7 auftüpfeln, um die Lokalisierung nach der Plattenentwicklung zu erleichtern.

6.1.6. Die Platte in einem nicht gesättigten Tank mit der Entwicklungslösung 4.5 entwickeln, bis das Lösungsmittel eine Linie 12 cm von der Startlinie entfernt erreicht hat; dies dauert im allgemeinen ca. 45 Minuten. Die Platte an der Luft trocknen und die Resorcin/DHT-Zone unter Kurzwellen-UV-Licht (254 nm) lokalisieren. Beide Verbindungen haben ungefähr die gleichen R_f-Werte. Die Bänder mit einem Bleistift in einem Abstand von 2 mm von der äußeren dunklen Grenzlinie der Bänder markieren. Diese markierte Zone mit der Schere abschneiden und das Adsorptionsmittel durch sorgfältiges Abschaben isolieren. Das Adsorptionsmittel der Bänder jeweils in eine kleine 10-ml-Flasche aufnehmen.

6.1.7. Das die Probe enthaltende Adsorptionsmittel und das die Standardmischung enthaltende Adsorptionsmittel jeweils wie folgt extrahieren: 2 ml Methanol (4.2) hinzufügen und eine Stunde lang unter ständigem Rühren mit einem magnetischen Rührstab extrahieren. Die Mischung filtrieren und die Extraktion weitere 15 Minuten lang mit 2 ml Methanol wiederholen.

6.1.8. Das Lösungsmittel der kombinierten Extrakte durch Trocknen über Nacht in einem mit einem geeigneten Trockenmedium gefüllten Vakuum-Exsikkator verdunsten lassen, keine Hitze anwenden.

6.1.9. Die Rückstände (6.1.8) entweder nach 6.1.9.1 oder 6.1.9.2 silylieren.

6.1.9.1. 200 µl BSTFA (4.9.1) mit einer Mikrospritze hinzufügen und die Mischung in einem geschlossenen Gefäß 12 Stunden bei Raumtemperatur ruhen lassen.

6.1.9.2. Nacheinander 200 µl HMDS (4.9.2) und 100 µl TMCS (4.9.3) mit einer Mikrospritze zum Rückstand (6.1.8) hinzufügen und die Mischung 30 Minuten lang bei 60 °C in einem geschlossenen Gefäß erhitzen. Die Mischung kühlen.

6.2. **Gaschromatographie**

6.2.1. *Bedingungen für die Gaschromatographie*

Die Säule muß eine Auflösung R besser 1,5 zeigen

$$R = \frac{2\,d^1\,(r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

r_1 und r_2 = Retentionszeiten von 2 Peaks in Minuten,

W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Peakhöhe,

d^1 = Papiervorschub in mm/Min.

Die nachstehend beschriebene Säule und gaschromatographischen Bedingungen haben sich als geeignet erwiesen:

Säule:	rostfreier Stahl
Länge:	200 cm
innerer Durchmesser:	~3 mm (1/8")
Füllung:	10 % OV 17 auf Chromosorb WAW 100-200 mesh

Flammenionisationsdetektor

Temperaturen:

Säule:	185 °C (isotherm)
Detektor:	250 °C
Injektor:	250 °C

Trägergas: Stickstoff

Strömungsgeschwindigkeit: 45 ml/min.

Die Strömungsbedingungen für Wasserstoff und Luft sind entsprechend den Gerätebeschreibungen einzustellen.

6.2.2. 3 µl der Lösungen gemäß 6.1.9 in den Gaschromatographen einspritzen. Für jede Lösung (6.1.9) fünf Einspritzungen, die Peakflächen genau messen, den Mittelwert bilden und das Peakflächenverhältnis berechnen : S = Peakfläche Resorcin/Peakfläche DHT.

7. BERECHNUNG

Die in Massenprozent ausgedrückte (% m/m) Resorcinkonzentration ergibt sich wie folgt:

$$\%\ (m/m)\ \text{Resorcin} = \frac{4}{M} \times \frac{\text{S-Probe}}{\text{S-Standardmischung}}$$

Dabei sind:

M	= Prüfmenge in Gramm (6.1.1),
S-Probe	= das durchschnittliche Peakflächenverhältnis gemäß 6.2.2 für die Probelösung,
S-Standardmischung	= das durchschnittliche Peakflächenverhältnis gemäß 6.2.2 für die Standardmischung.

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Für einen Resorcingehalt von 0,5 % darf der Unterschied zwischen Doppelbestimmungen 0,025 % nicht überschreiten.

Anlage 13

BESTIMMUNG VON METHANOL IM VERHÄLTNIS ZU ÄTHANOL ODER PROPANOL-2

1. ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode beschreibt die gaschromatographische Bestimmung von Methanol in allen kosmetischen Mitteln (einschließlich Aerosolen).

Es können relative Mengen von 0 bis 10 % bestimmt werden.

2. DEFINITION

Der Gehalt an Methanol, der mit dieser Methode bestimmt wird, ist in % (M/M) Methanol, bezogen auf Äthanol oder Propanol-2 anzugeben.

3. PRINZIP

Die Bestimmung wird mit Gaschromatographie durchgeführt.

---

(1) Siehe Norm ISO 5725.

4. REAGENZIEN

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

4.1. Methanol

4.2. Äthanol absolutum

4.3. Propanol-2

4.4. Chloroform, durch Waschen mit Wasser von Alkoholen befreit

5. GERÄTE

5.1. Gaschromatograph mit Katharometer-Detektor (für Aerosol-Proben)
Gaschromatograph mit Flammen-Ionisationsdetektor (für Nicht-Aerosol-Proben)

5.2. Meßkolben 100 ml

5.3. Pipetten 2 ml, 20 ml, 0 bis 1,0 ml

5.4. Injektionsspritzen 0 bis 100 µl und 0 bis 5 µl (nur für Aerosol-Proben): gasdichte Spezial-Kolbenspritze

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. **Vorbereitung der Proben**

6.1.1. Aerosolprodukte werden gemäß Anlage 2 behandelt und anschließend gaschromatographisch nach 6.2.1 bestimmt.

6.1.2. Die gemäß Anlage 2 behandelten Nicht-Aerosolprodukte werden mit Wasser auf einen Gehalt von 1 bis 2 % Äthanol oder Propanol-2 verdünnt und dann gaschromatographisch gemäß den Bedingungen von 6.2.2 bestimmt.

6.2. **Gaschromatographie**

6.2.1. Für Aerosolproben ist der Katharometer-Detektor zu verwenden.

6.2.1.1. Als Säulenfüllung ist 10 % Hallcomid M 18 auf Chromosorb W AW 100—120 mesh zu verwenden.

6.2.1.2. Die Auflösung R muß gleich oder besser als 1,5 sein.

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

r_1 und r_2 = Retentionszeit von 2 Peaks in Minuten,
W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Peakhöhe,
d' = Papiervorschub in mm/min.

6.2.1.3. Die Auflösung kann beispielsweise unter folgenden Bedingungen erzielt werden:

Säulenmaterial:	rostfreier Stahl
Säulenlänge:	3,5 m
Säulendurchmesser:	3 mm
Katharometerstrom:	150 mA

Trägergas:	Helium
Druck:	2,5 bar
Strömung:	45 ml/Min
Temperatur	
Injektor:	150 °C
Detektor:	150 °C
Säulenraum:	65 °C

6.2.2. Für andere als Aerosolproben ist der Flammenionisationsdetektor zu verwenden.

6.2.2.1. Als Säulenfüllung ist Chromosorb 105 auf Porapak QS zu verwenden.

6.2.2.2. Die Auflösung R muß gleich oder besser als 1,5 sein.

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

r_1 und r_2 = Retentionszeit von 2 Peaks in Minuten,

W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Peakhöhe,

d' = Papiervorschub in mm/min.

6.2.2.3. Die Auflösung kann beispielsweise unter folgenden Bedingungen erzielt werden:

Säulenmaterial:	rostfreier Stahl
Säulenlänge:	2 m
Säulendurchmesser:	3 mm
Elektrometerempfindlichkeit:	8×10^{-10} A
Trägergas:	Stickstoff
Druck:	2,1 bar
Strömung:	40 ml/min
Brenngas:	Wasserstoff
Druck:	1,5 bar
Strömung:	20 ml/min
Temperatur	
Injektor:	150 °C
Detektor:	230 °C
Ofenraum:	120—130 °C

7. EICHDIAGRAMM

7.1. Für die gaschromatographischen Bedingungen nach 6.2.1 (Hallcomid-M-18-Säule) sind folgende Standardmischungen zu verwenden. Diese Mischungen sind durch Messungen mit Pipetten herzustellen. Die genaue Menge wird durch sofortiges Wiegen nach jedem Zusatz festgestellt.

Relative Konzentration %	Methanol ml	Äthanol ml (oder Propanol-2)	Zusatz von Chloroform bis zu einem Volumen von
2,5 % ungefähr	0,5	20	100 ml
5,0 % ungefähr	1,0	20	100 ml
7,5 % ungefähr	1,5	20	100 ml
10,0 % ungefähr	2,0	20	100 ml

2 bis 3 µl n GC injizieren gemäß Bedingungen nach 6.2.1. Berechne das Peakflächenverhältnis (Methanol/Äthanol) oder (Methanol/Propanol-2) jeder Mischung und trage es in das Eichdiagramm ein.

X-Achse: % Methanol im Verhältnis zu Äthanol oder Propanol-2;

Y-Achse: Peakflächenverhältnis (Methanol/Äthanol) oder (Methanol/Propanol-2).

7.2. Für die GC-Bedingungen nach 6.2.2 (Porapak QS oder Chromosorb 105) sind folgende Standardmischungen zu verwenden. Diese Mischungen sind durch Messung mit einer Injektionsspritze und Pipette herzustellen. Die genaue Menge wird durch sofortiges Wiegen nach jedem Zusatz eingestellt.

Relative Konzentration %	Methanol µl	Äthanol ml (oder Propanol-2)	Zusatz von Wasser bis zu einem Volumen von
2,5 % ungefähr	50	2	100 ml
5,0 % ungefähr	100	2	100 ml
7,5 % ungefähr	150	2	100 ml
10,0 % ungefähr	200	2	100 ml

2 bis 3 µl gemäß Bedingungen nach 6.2.2 injizieren. Peakflächenverhältnis (Methanol/Äthanol) oder (Methanol/Propanol-2) jeder Mischung berechnen. In Eichdiagramm eintragen:

X-Achse: % Methanol im Verhältnis zu Äthanol oder Propanol-2;

Y-Achse: Peakflächenverhältnis (Methanol/Äthanol) oder (Methanol/Propanol-2).

7.3. Die Eichkurve muß eine Gerade sein.

8. WIEDERHOLBARKEIT [1]

Bei einem Gehalt an Methanol oder Propanol-2 von 5 % bezogen auf Äthanol darf der Unterschied zwischen Doppelbestimmungen 0,25 % nicht überschreiten.

---

[1] Siehe Norm ISO 5725.

Anlage 14

QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON DICHLORMETHAN UND 1,1,1-TRICHLORETHAN

1. ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode beschreibt die quantitative Bestimmung von Dichlormethan (Methylenchlorid) und 1,1,1-Trichlorethan (Methylchloroform).

Sie ist auf alle kosmetischen Mittel anwendbar, die diese Verbindungen enthalten können.

2. DEFINITION

Der gemäß dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Dichlormethan und an 1,1,1-Trichlorethan wird in Masseprozent ausgedrückt.

3. PRINZIP

Die quantitative Bestimmung beruht auf Gaschromatographie unter Verwendung von Trichlormethan (Chloroform) als internem Standard.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Trichlormethan ($CHCl_3$).

4.2. Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4).

4.3. Dichlormethan (CH_2Cl_2).

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

4.5. Aceton.

4.6. Stickstoff.

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät.

5.2. Gaschromatograph mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor.

5.3. 50-100 ml Aufnahmeflasche (siehe Probenahme 5.3, Anlage 1)

5.4. Druckgasspritze (siehe Probenahmemethode 5.4.2.2, Anlage 2)

6. VERFAHREN

6.1. Probe ohne Gasüberdruck:

Die Probe in einen mit einem Stopfen verschlossenen Erlenmeyerkolben genau einwiegen; eine genau gewogene, der vermuteten Menge des in der Probe enthaltenen CH_2Cl_2 und CH_3CCl_3 äquivalente Menge $CHCl_3$ (4.1) als internen Standard hinzufügen und gründlich durchmischen.

6.2. Probe mit Gasüberdruck:

In diesem Fall ist die im Kapitel Probenahme beschriebene Methode unter Beachtung folgender Einzelheiten anzuwenden:

6.2.1. Nach Überführung der Probe in die Aufnahmeflasche eine der vermuteten Menge des in der Probe enthaltenen CH_2Cl_2 und/oder CH_3CCl_3 äquivalente Menge des internen Standards (4.1) hinzufügen und gründlich durchmischen.

Das Totvolumen des Ventils der Aufnahmeflasche wird mit 0,5 ml CCl_4 (4.2) gespült, das man verdunsten läßt.

Die Masse des internen Standards wird durch Differenzwägung der Aufnahmeflasche ermittelt.

6.2.2. Das Teflonende der Injektionsspritze wird nach dem Aufziehen der Probe so mit Stickstoff (4.6) gespült, daß vor der Einführung in den Gaschromatographen im Teflonende keinerlei Probenrückstand zurückbleibt.

6.2.3. Nach jeder Probenahme ist das Ende des Ventils oder das eventuell benutzte Anschlußstück (mit Hilfe einer Injektionsspritze) mehrere Male mit Aceton (4.5) zu spülen und danach gründlich mit Stickstoff (4.6) zu trocknen.

6.2.4. Für jede Analyse sind Messungen anhand von zwei verschiedenen Aufnahmeflaschen und fünf Messungen pro Flasche durchzuführen.

7. CHROMATOGRAPHIE-BEDINGUNGEN

7.1. ***Vorsäule***

Material: Edelstahl.

Durchmesser: 3 mm oder 6 mm.

Länge: 30 cm.

Säulenfüllung: Chromosorb, wie für die Herstellung der analytischen Säule verwendet.

7.2. ***Säule***

Die stationäre Phase besteht aus Hallcomid M 18 auf Chromosorb. Die Säule muß eine Auflösung R gleich oder besser als 1,5 ergeben.

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

r_1 und r_2 : Retentionszeiten in Minuten;

W_1 und W_2 : Peakbreiten in halber Höhe in mm;

d' : Papiervorschub in mm/min.

7.3. Zum Beispiel führten folgende Säulen zu den gewünschten Ergebnissen:

Säule:	*I*	*II*
Material der Säule:	Edelstahl	Edelstahl
Länge:	3,50 m	4,0 m
Durchmesser:	3 mm	6 mm
Säulenfüllung:		
Chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
Korngröße:	100-120 mesh	60-80 mesh
Stationäre Phase:	Hallcomid M 18 10 %	Hallcomid M 18 20 %
Temperatur:		
Säule:	65 °C	75 °C
Injektor:	150 °C	125 °C
Detektor:	150 °C	200 °C
Trägergas:		
Helium:	45 ml/min	60 ml/min
Vordruck:	2,5 bar	2,0 bar
Injektion:	15µl	15µl

8. ERMITTLUNG DER PROPORTIONALITÄTSKOEFFIZIENTEN

In einen Erlenmeyerkolben ist das folgende Gemisch genau einzuwiegen:

CH_2Cl_2 (4.3): 30 % m/m Dichlormethan,

CH_3CCl_3 (4.4): 35 % m/m Trichlorethan,

$CHCl_3$ (4.1): 35 % m/m Trichlormethan.

Dieses Gemisch dient dazu, die Werte der Proportionalitätskoeffizienten zu stabilisieren.

9. BERECHNUNGEN

9.1. ***Berechnung des Proportionalitätskoeffizienten einer Substanz p im Verhältnis zu einer Substanz a (interner Standard)***

Bedeutet p die zu analysierende Substanz,

so ist:

k_p : der Proportionalitätskoeffizient dieser Substanz,

m_p : ihre Masse in der Mischung,

A_p : ihre Peakfläche;

bedeutet a die Substanz des internen Standards,

so ist:

k_a : ihr Proportionalitätskoeffizient (= 1 gesetzt),

m_a : ihre Masse in der Mischung,

A_a : ihre Peakfläche:

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

Zum Beispiel wurden folgende Proportionalitätskoeffizienten erhalten (für $CHCl_3$: k = 1):

CH_2Cl_2 : $k_1 = 0{,}78 \pm 0{,}03$

CH_3CCl_3 : $k_2 = 1{,}00 \pm 0{,}03$

9.2. ***Berechnung des prozentualen Anteils (m/m) von CH_2Cl_2 und CH_3CCl_3 in der zu untersuchenden Mischung***

k_1 : Proportionalitätskoeffizient von CH_2Cl_2,

k_2 : Proportionalitätskoeffizient von CH_3CCl_3,

m_a: Masse in g des zugesetzten $CHCl_3$,

m_s: Masse in g der zu untersuchenden Probe,

A_a: Peakfläche des $CHCl_3$,

A_1: Peakfläche des CH_2Cl_2,

A_2: Peakfläche des CH_3CCl_3,

$$\%\ (m/m)\ CH_2Cl_2 = \frac{m_a \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times m_s}$$

$$\%\ (m/m)\ CH_3CCl_3 = \frac{m_a \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_a \times m_s}$$

10. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt an Dichlormethan und/oder 1,1,1-Trichlorethan von 25 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier Parallelbestimmungen an derselben Probe 2,5 % absolut nicht überschreiten.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

Anlage 15

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON 8-CHINOLINOL UND DESSEN SULFAT

1. ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode beschreibt die Identifikation und quantitative Bestimmung von 8-Chinolinol und seinem Sulfat in kosmetischen Erzeugnissen.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an 8-Chinolinol wird ausgedrückt in Massen-% 8-Chinolinol.

3. PRINZIP

3.1. ***Identifikation***

Die Identifikation erfolgt durch Dünnschichtchromatographie.

3.2. ***Quantitative Bestimmung***

Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Photometrie des nach Zugabe von Fehlingscher Lösung gebildeten Kupferkomplexes bei 410 nm.

4. REAGENZIEN

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden.

4.1. 8-Chinolinol (8-Hydroxychinolin).

4.2. Benzol; wegen seiner Toxizität ist beim Arbeiten mit Benzol größte Vorsicht geboten.

4.3. Chloroform.

4.4. 50%ige Natriumhydroxidlösung (m/m).

4.5. Kupfersulfat · 5 H_2O.

4.6. Kaliumnatriumtartrat.

4.7. Salzsäure 1 N.

4.8. Schwefelsäure 1 N.

4.9. Natriumhydroxidlösung 1 N.

4.10. Ethanol.

4.11. n-Butanol.

4.12. Eisessig.

4.13. Salzsäure 0,1 N.

4.14. Celite 545 oder gleichwertiges Produkt.

4.15. ***Vergleichslösungen***

4.15.1. 100,0 mg 8-Chinolinol (4.1) in einen 100 ml Meßkolben einbringen, in wenig 1 N Schwefelsäure (4.8) lösen und danach mit 1 N H_2SO_4 (4.8) bis zur Marke auffüllen.

4.15.2. 100,0 mg 8-Chinolinol (4.1) in einen 100 ml Meßkolben einbringen, in Ethanol (4.10) lösen, mit Ethanol (4.10) bis zur Marke auffüllen und mischen.

4.16. ***Fehling'sche Lösung***

Lösung A

In einen 100 ml Meßkolben 7,0 g Kupfersulfat 5 H_2O (4.5) einwägen. In wenig Wasser auflösen, mit Wasser bis zur Marke auffüllen und mischen.

Lösung B

In einen 100 ml Meßkolben 35,0 g Kaliumnatrium-tartrat (4.6) einwägen und in 50 ml Wasser lösen. Nach dem Zusatz von 20 ml 50%iger Natriumhydroxidlösung (4.4) mit Wasser bis zur Marke auffüllen und mischen.

Unmittelbar vor dem Gebrauch 10,0 ml Lösung A und 10,0 ml Lösung B in einen 100 ml Meßkolben pipettieren und mit Wasser bis zur Marke auffüllen.

4.17. ***Fließmittel für die Dünnschichtchromatographie***

I. n-Butanol-Eisessig-Wasser (80-20-20; v/v/v).

II. Chloroform-Eisessig (95-5; v/v).

4.18. 1%ige (m/v) Lösung von 2,6-Dichlor-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienon in Ethanol (4.10).

4.19. 1%ige (m/v) Natriumkarbonatlösung.

4.20. 30%ige (v/v) Lösung von Ethanol (4.10) in Wasser.

4.21. 5%ige (m/v) Lösung von Dinatriumdihydrogenethylendiamintetraacetat.

4.22. ***Puffer*** P_H 7

27 g KH_2PO_4 und 70 g K_2HPO_4 3 H_2O in einen 1-Liter-Meßkolben einwägen und mit Wasser auffüllen.

4.23. ***Kieselgeldünnschicht-Fertigplatten***

Schichtdicke 0,25 mm (z.B. Kieselgel 60 von Merck oder gleichwertig), die vor dem Gebrauch mit jeweils 10 ml des Reagenz (4.21) besprüht und bei 80 °C getrocknet worden sind.

5. GERÄTE

5.1. 100 ml Rundkolben mit Schliff.

5.2. Meßkolben.

5.3. 10 und 5 ml Meßpipetten.

5.4. 20, 15, 10, 5 ml Vollpipetten.

5.5. 100, 50 und 25 ml Scheidetrichter.

5.6. Faltenfilter Ø 9 cm.

5.7. Rotationsverdampfer.

5.8. Rückflußkühler mit Schliff.

5.9. Spektralphotometer.

5.10. 1 cm Küvetten.

5.11. Rührwerk mit elektrischer Heizung.

5.12. Glassäule für Chromatographie, 160 mm Länge und 8 mm Durchmesser, die am unteren Ende eine Verjüngung enthält, in der sich ein Glaswollpfropfen befindet und deren oberes Teil so beschaffen ist, daß unter Anwendung eines geringen Überdruckes eluiert werden kann.

6. VERFAHREN

6.1. ***Identifikation***

6.1.1. *Flüssige Proben*

6.1.1.1. Der P_H-Wert eines Teiles der zu untersuchenden Probe wird eingestellt auf 7,0 und sodann werden auf je einen Punkt der Startlinie einer vorbehandelten Kieselgeldünnschichtplatte (4.23) 5 bzw. 10 µl aufgetragen.

6.1.1.2. Auf zwei weitere Punkte der Startlinie werden 10 bzw. 30 µl der Vergleichslösung (4.15.2) aufgetragen. Anschließend wird die Platte in einem der beiden Fließmittel (4.17) entwickelt.

6.1.1.3. Nachdem die Fließmittelfront 15 cm erreicht hat, wird die Platte bei 110 °C getrocknet (15 Minuten). Unter der UV-Lampe (366 nm) fluoreszieren die 8-Chinolinolflecke gelb.

6.1.1.4. Anschließend wird mit der 1%igen Natriumkarbonatlösung (4.19) besprüht und nach dem Trocknen mit der 1%igen 2,6-Dichlor-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienonlösung (4.18). Das 8-Chinolinol wird als blauer Fleck sichtbar.

6.1.2. *Feste Proben bzw. Cremes*

6.1.2.1. 1 g der Probe wird suspendiert in 5 ml Puffer P_H 7 (4.22) und sodann mit 10 ml Chloroform (4.3) in einen Scheidetrichter überführt und ausgeschüttelt. Nach Ablassen der Chloroformschicht wird die wässerige Suspension noch zweimal mit je 10 ml Chloroform (4.3) extrahiert und die vereinigten und filtrierten Chloroformextrakte in einem 100 ml Rundkolben (5.1) am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird in 2 ml Chloroform (4.3) aufgenommen und 10 bzw. 30 µl der erhaltenen Lösung werden auf der unter 6.1.1.1 angegebenen Weise auf einer Kieselgeldünnschichtplatte (4.23) aufgetragen.

6.1.2.2. Nach dem Auftragen von 10 bzw. 30 µl der Vergleichslösung (4.15.2) wird die Platte weiter behandelt wie unter 6.1.1.2 bis einschließlich 6.1.1.4 angegeben.

6.2. ***Quantitative Bestimmung***

6.2.1. *Flüssige Proben*

6.2.1.1. In einen 100 ml Rundkolben mit Schliff werden 5,00 g der Probe eingewogen, 1 ml der 1 N Schwefelsäure (4.8) zupipettiert und die Mischung bei vermindertem Druck (50 °C) bis fast zur Trockne eingeengt.

6.2.1.2. Dieser Rückstand wird in 20 ml warmem Wasser gelöst, in einen 100 ml Meßkolben unter dreimaligem Nachspülen mit je 20 ml Wasser überführt, mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt und gemischt.

6.2.1.3. Von dieser Lösung werden 5,0 ml in einen 50 ml Scheidetrichter (5.5) einpipettiert. Nach dem Zusatz von 10 ml Fehling'scher Lösung (4.16) wird der entstandene 8-Chinolinol-Kupferkomplex dreimal mit je 8 ml Chloroform (4.3) ausgeschüttelt.

6.2.1.4. Die Chloroformphasen werden filtriert und in einem 25 ml Meßkolben (5.2) gesammelt. Nach dem Auffüllen mit Chloroform (4.3) und Umschütteln wird die Extinktion der gelben Lösung bei λ = 410 nm gegen Chloroform gemessen.

6.2.2. *Feste Proben bzw. Cremes*

6.2.2.1. 0,500 g der Probe werden in einen 100 ml Rundkolben (5.1) eingewogen, 30 ml Benzol (4.2) sowie 20 ml 1 N Salzsäure (4.7) zugefügt und der Kolbeninhalt 30 Minuten am Rückfluß unter Rühren gekocht.

6.2.2.2. Der Kolbeninhalt wird in einen 100 ml Scheidetrichter (5.5) überführt und mit 5 ml 1 N HCl (4.7) nachgespült. Die wässerige Phase wird in einen Rundkolben (5.1) überführt, die Benzolphase mit 5 ml 1 N Salzsäure (4.7) nachgewaschen und das Waschwasser mit der übrigen wässerigen Phase vereint. Weiterführung der Analyse wie unter 6.2.2.4 angegeben.

6.2.2.3. Im Falle von Emulsionen, die die weitere Aufarbeitung behindern:

0,500 g der Probe werden mit 2 g Celite 545 (4.14) der Art vermischt, daß ein lockeres Puder entsteht. Die Mischung wird portionsweise in eine Chromatographie-Glassäule (5.12) überführt und nach jeder Zugabe die Säulenfüllung fest gepackt mit Hilfe eines Glasstabes. Sobald die gesamte Mischung in die Säule überführt ist, wird mit 0,1 N Salzsäure (4.13) eluiert und zwar so, daß innerhalb von ungefähr zehn Minuten 10 ml Eluat erhalten werden, nötigenfalls kann diese Elution unter einem geringen Stickstoff-Überdruck durchgeführt werden. Während der Elution muß darauf geachtet werden, daß sich immer Salzsäure oberhalb der Säulenfüllung befindet. Die ersten 10 ml Eluat werden wie unter 6.2.2.4 angegeben weiter verarbeitet.

6.2.2.4. Die gesammelten wässerigen Phasen (6.2.2.2 bzw. das Eluat 6.2.2.3) werden am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bis fast zur Trockne eingeengt.

6.2.2.5. Der Rückstand wird in 6 ml 1 N Natriumhydroxydlösung (4.9) gelöst, 20 ml Fehling'sche Lösung (4.16) zugefügt und der Kolbeninhalt in einen 50 ml Scheidetrichter (5.5) überführt unter Nachspülen mit 8 ml Chloroform (4.3). Nach dem Ausschütteln wird die Chloroformphase filtriert und in einem 50 ml Meßkolben (5.2) gesammelt.

6.2.2.6. Diese Extraktion noch dreimal mit 8 ml Chloroform (4.3) wiederholen. Die Chloroformphasen werden filtriert und ebenfalls in dem 50 ml Meßkolben (5.2) gesammelt.
Nach dem Auffüllen mit Chloroform und Umschütteln wird die Extinktion der gelben Lösung bei λ = 410 nm gegen Chloroform gemessen.

7. AUFSTELLEN DER EICHKURVE

In je einen 100 ml Rundkolben (5.1), der 3 ml 30%igen wässerigen Ethanol (4.20) enthält, werden 5, 10, 15 bzw. 20 ml der Vergleichslösung (4.15.1) einpipettiert und wie unter 6.2.1 beschrieben aufgearbeitet.

8. BERECHNUNG

8.1. ***Flüssige Proben***

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

worin:

a : mg 8-Chinolinol, abgelesen auf der Eichkurve (7),

m (mg): Einwaage der Probe (6.2.1.1).

8.2. ***Feste Proben bzw. Cremes***

8-Chinolinolgehalt in % (m/m) $= \frac{2a}{m} \times 100$

worin:

a : mg 8-Chinolinol, abgelesen auf der Eichkurve (7),

m (mg): Einwaage der Probe (6.2.2.1).

9. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt von ca. 0,3 % 8-Chinolinol darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier Parallelbestimmungen an derselben Probe nicht höher sein als 0,02 %.

Anlage 16

QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES AMMONIAKS

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die Bestimmung von freiem Ammoniak in kosmetischen Erzeugnissen.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Ammoniak wird ausgedrückt in Massenprozent NH_3.

3. PRINZIP

Zu dem kosmetischen Erzeugnis wird in Methanol-Wasser-Medium eine Bariumchlorid-Lösung hinzugefügt. Dieses Vorgehen vermeidet die Miterfassung bestimmter Ammoniumsalze während der Wasserdampfdestillation (wie des Karbonats und des Hydrogenkarbonats, von Salzen von Fettsäuren usw.). Ammonium-acetat wird unter diesen Bedingungen miterfaßt.

Das Ammoniak wird durch Wasserdampfdestillation aus dem Filtrat oder aus der überstehenden Flüssigkeit entfernt und titrimetrisch oder potentiometrisch bestimmt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Methanol.

4.2. 25%ige (m/v) Bariumchlorid-Dihydrat-Lösung.

4.3. 4%ige (m/v) Ortho-Borsäurelösung.

4.4. Schwefelsäure-Maßlösung, 0,5 N.

4.5. Flüssiges Antischaummittel.

4.6. Natriumhydroxid-Maßlösung, 0,5 N.

4.7. Indikator: Mischung von 5 ml einer Methylrotlösung (0,1 % in Ethanol) mit 2 ml einer Methylenblaulösung (0,1 % in H_2O).

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät.

5.2. Zentrifuge mit verschließbaren Zentrifugengläsern.

5.3. Wasserdampfdestillationsapparatur.

5.4. Potentiograph.

5.5. Glaselektrode und Diquecksilberdichlorid(Kalomel)-Referenzelektrode.

6. VERFAHREN

6.1. In einen 100-ml-Meßkolben wird eine Probenmenge, die maximal 150 mg NH_3 entspricht, auf 1 mg genau eingewogen.

6.2. Zu der Probe werden hinzugefügt:

10 ml H_2O,

10 ml Methanol (4.1),

10 ml Bariumchloridlösung (4.2).

Bis zur 100-ml-Marke mit Methanol (4.1) auffüllen.

6.3. Homogenisieren und über Nacht im Kühlschrank (5 °C) aufbewahren.

6.4. Die noch kalte Lösung wird dann filtriert oder in geschlossenen Gläsern zentrifugiert, bis eine klare Trennung erreicht ist (10 Min.).

6.5. 40 ml der klaren Lösung werden mit der Pipette in die Apparatur (5.3) eingefüllt und eventuell 0,5 ml Antischaummittel (4.5) hinzugegeben.

6.6. Anschließend wird destilliert.

200 ml des Destillats werden in einem 250-ml-Becherglas, das 10,0 ml H_2SO_4 — 0,5 N (4.4) und 0,1 ml des Indikators (4.7) enthält, aufgefangen.

6.7. Die überschüssige H_2SO_4 wird mit NaOH 0,5 N (4.6) rücktitriert.

6.8. Im Fall einer potentiometrischen Bestimmung werden 200 ml Destillat in einem 250-ml-Becherglas, das 25 ml Orthoborsäure (4.3) enthält, aufgefangen. Anschließend wird mit H_2SO_4 — 0,5 N (4.4) titriert.

7. AUSWERTUNG

7.1. ***Berechnung bei Rückbestimmung mit Indikator***

Mit:

V_1 (ml) : Volumen der zugegebenen NaOH 0,5 N (4.6),

T_1 : Titer der NaOH 0,5 N (4.6),

T_2 : Titer der H_2SO_4 0,5 N (4.4),

m (mg) : Probeneinwaage (6.1)

ergibt sich folgende Formel:

$$NH_3\ \%\ (m/m) = \frac{(10\,T_2 - V_1\,T_1) \times 17 \times 100}{0{,}4\,m} = \frac{(10\,T_2 - V_1\,T_1) \times 4250}{m}$$

7.2. ***Berechnung bei direkter potentiometrischen Bestimmung***

Mit:

V_2 (ml) : Volumen H_2SO_4 0,5 N (4.4),

T_2 : Titer der H_2SO_4 0,5 N (4.4),

m (mg) : Probeneinwaage (6.1)

ergibt sich folgende Formel:

$$NH_3\ \%\ (m/m) = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0{,}4\ m} = \frac{V_2 \times T_2 \times 4250}{m}$$

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt von ca. 6 % NH_3 darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier parallel durchgeführter Bestimmungen an derselben Probe nicht höher sein als 0,6 %.

Anlage 17

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON NITROMETHAN

1. ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode ist zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Nitromethan bis zu einem Gehalt von 0,3 % in kosmetischen Mitteln in Aerosolbehältern geeignet.

2. DEFINITION

Der mit dieser Methode festgestellte Nitromethangehalt ist definiert als der prozentuale Massenanteil von Nitromethan in dem gesamten Inhalt des Aerosolbehälters.

3. PRINZIP

Der Nachweis des Nitromethan erfolgt durch eine Farbreaktion, seine quantitative Bestimmung durch Gaschromatographie nach Zugabe eines internen Standards.

4. NACHWEIS

4.1. ***Reagenzien***

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1.1. Natriumhydroxidlösung 0,5 N.

4.1.2. *Folinreagenz*

0,1 g 1,2-Naphthochinon-4-Sulfonsäure-Natriumsalz in Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen.

4.2. ***Verfahren***

Zu 1 ml der Probe werden 10 ml von 4.1.1 und 1 ml von 4.1.2 hinzugefügt. Eine violette Färbung zeigt die Anwesenheit von Nitromethan an.

5. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

5.1. ***Reagenzien***

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

5.1.1. Chloroform (interner Standard 1).

5.1.2. 2,4-Dimethylheptan (interner Standard 2).

5.1.3. Ethanol 95 %.

5.1.4. Nitromethan.

5.1.5. *Chloroform-Referenzlösung*

Etwa 650 mg Chloroform (5.1.1) in einen zuvor gewogenen 25-ml-Meßkolben einfüllen. Kolben und Inhalt genau wiegen. Mit 95%igem Ethanol (5.1.3) auf 25 ml auffüllen. Wiegen und den prozentualen Gewichtsanteil von Chloroform in dieser Lösung berechnen.

5.1.6. *Dimethylheptan-Referenzlösung*

Auf gleiche Weise wie die Chloroform-Referenzlösung zubereiten, aber in den 25-ml-Meßkolben 270 mg 2,4-Dimethylheptan (5.1.2) einwiegen.

5.2. ***Geräte***

5.2.1. Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor.

5.2.2. Gerät für die Probenahme von Aerosolen (Aufnahmeflasche, Mikrospritze, Anschlußstücke usw.), wie in Anlage 2 beschrieben.

5.2.3. Übliche Laborgeräte.

5.3. ***Verfahren***

5.3.1. *Vorbereitung der Probe*

In eine gewogene 100-ml Aufnahmeflasche, die entsprechend dem in Punkt 5.4 der Anlage 2 der oben angegebenen Richtlinie beschriebenen Verfahren vorbereitet wurde, etwa 5 ml des internen Standards 5.1.5 oder 5.1.6 einfüllen. Eine 10- oder 20-ml-Glasspritze ohne Nadel verwenden, die an das Anschlußstück entsprechend der in Punkt 5 der Anlage 2 der oben angegebenen Richtlinie beschriebenen Technik angepaßt wurde. Erneut wiegen, um die hinzugegebene Menge zu bestimmen. Nach der gleichen Technik in die gleiche Flasche etwa 50 g des Inhalts der Aerosolbehälterprobe umfüllen. Erneut wiegen, um die Menge der umgefüllten Probe zu bestimmen. Gut mischen. Etwa 10 µl mit der speziellen Mikrospritze (5.2.2) einspritzen. Fünf Einspritzungen vornehmen.

5.3.2. *Vorbereitung der Standardlösung*

In einen 50-ml-Meßkolben etwa 500 mg Nitromethan (5.1.4) und entweder 500 mg Chloroform (5.1.1) oder 210 mg 2,4-Dimethylheptan (5.1.2) genau einwiegen und mit 95%igem Ethanol (5.1.3) auffüllen. Gut mischen. 5 ml dieser Lösung werden in einen 20-ml-Meßkolben eingefüllt. Mit 95%igem Ethanol (5.1.3) auffüllen. Etwa 10 µl mit der speziellen Mikrospritze (5.2.2) einspritzen. Fünf Einspritzungen vornehmen.

5.3.3. *Gaschromatographische Bedingungen*

5.3.3.1. Säule

Sie besteht aus zwei Teilen, der erste enthält Didecylphthalat auf Gas Chrom Q als stationäre Phase, der zweite Teil Ucon 50 HB 280 X auf Gas Chrom Q als stationäre Phase.

Die so hergestellte Säule muß eine Auflösung R ergeben, die gleich oder besser als 1,5 ist, wobei bedeuten:

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

r_1 und r_2 : Retentionszeit in Minuten,

W_1 und W_2: Peakbreiten in halber Höhe in mm,

d' : Papiervorschub in mm/min.

Als Beispiel ergeben die folgenden zwei Säulenteile die erforderliche Auflösung:

Teil A:

Material:	rostfreier Stahl.
Länge:	1,5 m.
Durchmesser:	3 mm.
Packung:	20 % Didecylphthalat auf Gas Chrom Q, 100-120 mesh.

Teil B:

Material:	rostfreier Stahl.
Länge:	1,5 m.
Durchmesser:	3 mm.
Packung:	20 % Ucon 50 HB 280 X, auf Gas Chrom Q, 100-120 mesh.

5.3.3.2. Detektor

Die geeignete Empfindlichkeit des Elektrometers des Flammenionisationsdetektors ist 8×10^{-10} A.

5.3.3.3. Temperaturbedingungen

Folgende Bedingungen haben sich als geeignet erwiesen:

Injektor: 150 °C.

Detektor: 150 °C.

Säule: zwischen 50 °C und 80 °C, je nach Art der Säule und des Gerätes.

5.3.3.4. Gase

Trägergas:	Stickstoff.
Druck:	2,1 bar.
Durchfluß:	40 ml/min.
Detektor:	die zu verwendenden Gase entsprechend den Angaben des Herstellers.

6. BERECHNUNGEN

6.1. ***Responsefaktor von Nitromethan, berechnet unter Zugrundelegung des verwendeten internen Standards***

Dabei ist:

n: Nitromethan,
k_n: Responsefaktor,
m'_n: Masse in g in der Mischung,
S'_n: Peakfläche,
c: interner Standard, Chloroform oder 2,4-Dimethylheptan,
m'_c: Masse in g in der Mischung,
S'_c: Peakfläche.

Daraus folgt:

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

Dabei ist k_n eine Funktion des Gerätes.

6.2. Konzentration von Nitromethan in der Probe:

n: Nitromethan,
k_n: Responsefaktor,
S_n: Peakfläche,

c: interner Standard, Chloroform oder 2,4-Dimethylheptan,
m_c: Masse in g in der Mischung,
S_c: Peakfläche,
M: Masse in g des umgefüllten Aerosols.

Daraus folgt: der Anteil in % m/m Nitromethan in der Probe ist:

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

7. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Nitromethangehalt von 0,3 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier parallel ausgeführten Bestimmungen an der gleichen Probe 0,03 % nicht überschreiten.

Anlage 18

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON THIOGLYKOLSÄURE IN DAUERWELLENPRÄPARATEN, HAARENTKRÄUSELUNGSMITTELN UND ENTHAARUNGSMITTELN

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thioglykolsäure in Dauerwellenpräparaten, Haarentkräuselungsmitteln und Enthaarungsmitteln in Gegenwart anderer, eventuell vorhandener Reduktionsmittel.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Thioglykolsäure wird in Massenprozent Thioglykolsäure angegeben.

3. PRINZIP

Thioglykolsäure wird entweder durch Farbreaktionen oder durch Dünnschichtchromatographie nachgewiesen. Ihre quantitative Bestimmung erfolgt entweder durch Jodometrie oder Gaschromatographie.

4. NACHWEIS

4.1. ***Nachweis durch Farbreaktion***

4.1.1. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1.1.1. Bleidi(acetat)-Papier.

4.1.1.2. Salzsäure (1 vol HCl konzentriert + 1 vol H_2O).

4.1.2. *Verfahren*

4.1.2.1. Nachweis der Thioglykolsäure durch Farbreaktion mit Bleidi(acetat):

Bringe einen Tropfen der zu untersuchenden Probe auf Bleidi(acetat)-Papier (4.1.1.1). Erscheint eine intensive Gelbfärbung, liegt wahrscheinlich Thioglykolsäure vor.

Empfindlichkeit: 0,5 %.

4.1.2.2. Nachweis anorganischer Sulfide durch Bildung von H_2S nach Ansäuern:

Bringe einige mg der zu untersuchenden Probe in ein Reagenzglas. Füge 2 ml Wasser und 1 ml Salzsäure (4.1.1.2) hinzu. Es entwickelt sich H_2S, erkennbar an

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

seinem Geruch und der Bildung eines schwarzen Niederschlags von PbS auf dem Bleiacetat-Papier.

Empfindlichkeit: 50 ppm.

4.1.2.3. Nachweis von Sulfiten durch Bildung von SO_2 nach Ansäuern:

Verfahre wie in Abschnitt 4.1.2.2. Bringe zum Kochen. SO_2 ist erkennbar an seinem Geruch und seinem Reduktionsvermögen z.B. gegenüber MnO_4^-.

4.2. *Nachweis durch Dünnschichtchromatographie*

4.2.1. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen, wenn nicht anders angegeben, analysenrein sein.

4.2.1.1. Thioglykolsäure mindestens 98 % (Reinheit jodometrisch bestimmt).

4.2.1.2. Dithioglykolsäure mindestens 99 %.

4.2.1.3. Thiomilchsäure mindestens 95 %.

4.2.1.4. 3-Mercaptopropionsäure mindestens 98 %.

4.2.1.5. Thioglycerin (3-Mercaptopropan-1,2-diol) mindestens 98 %.

4.2.1.6. DC-Fertigplatten Kieselgel, Schichtdicke 0,25 mm.

4.2.1.7. DC-Fertigplatten Aluminiumoxid, Schichtdicke 0,25 mm (z.B. Merck F 254 E oder gleichwertige).

4.2.1.8. HCl *konzentriert* (d_4^{20} = 1,19).

4.2.1.9. Ethylacetat.

4.2.1.10. Chloroform.

4.2.1.11. Diisopropylether.

4.2.1.12. Tetrachlorkohlenstoff.

4.2.1.13. Eisessig.

4.2.1.14. Kaliumjodid 1 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.15. Platintetrachlorid 0,1 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.16. Laufmittel:

4.2.1.16.1. Ethylacetat-Chloroform-Diisopropylether-Eisessig (20 : 20 : 10 : 10) (v/v/v/v).

4.2.1.16.2. Chloroform-Eisessig (90 : 20) (v/v).

4.2.1.17. Sprühmittel:

4.2.1.17.1. Mische unmittelbar vor Gebrauch gleiche Volumen von Lösung 4.2.1.14 und 4.2.1.15.

4.2.1.17.2. Bromlösung 5 % (m/v). Löse 5 g Brom in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Fluoreszeinlösung 0,1 % (m/v). Löse 100 mg Fluoreszein in 100 ml Ethanol 95 %.

4.2.1.17.4. Hexaammoniumheptamolybdat 10 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.18. Referenzlösungen:

4.2.1.18.1. Thioglykolsäure 0,4 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.18.2. Dithioglykolsäure 0,4 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.18.3. Thiomilchsäure 0,4 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.18.4. 3-Mercaptopropionsäure 0,4 % (m/v) in Wasser.

4.2.1.18.5. Thioglycerin 0,4 % (m/v) in Wasser.

4.2.2. *Geräte*

Übliche Geräte für die Dünnschichtchromatographie.

4.2.3. *Verfahren*

4.2.3.1. Behandlung der Proben

Die Probe mit Salzsäure (4.2.1.8) ansäuern (pH = 1) und, falls erforderlich, filtrieren. In gewissen Fällen ist es ratsam, die Probe zu verdünnen. Dann wird das Ansäuern mit Salzsäure vor der Verdünnung vorgenommen.

4.2.3.2. Entwicklung

Bringe 1 µl der Probenlösung (4.2.3.1) und je 1 µl der fünf Referenzlösungen (4.2.1.18) auf die Platte. Trockne vorsichtig in einem schwachen Stickstoffstrom und entwickle mit dem Fließmittel (4.2.1.16.1) oder (4.2.1.16.2). Trockne so rasch wie möglich unter Stickstoff zur Vermeidung der Oxidation der Thiole.

4.2.3.3. Anfärbung

Besprühe die Platte mit einem der drei Reagenzien (4.2.1.17.1), (4.2.1.17.3) oder (4.2.1.17.4). Wurde die Platte mit Reagenz (4.2.1.17.3) besprüht, wird sie weiter mit Bromdampf behandelt: stelle sie in ein mit Brom (4.2.1.17.2) gesättigtes Gefäß, bis die Flecke sichtbar werden.

Die Anfärbung mit dem Sprühmittel (4.2.1.17.4) ist nur dann zufriedenstellend, wenn das Trocknen der Platte $^1/_2$ Stunde nicht überschreitet.

4.2.3.4. Auswertung

Vergleiche die Rf-Werte und die Farbe der Referenzlösungen mit denen der Probenlösung. Die hier angegebenen Rf-Mittelwerte können nur als Anhaltspunkte und nicht zum direkten Vergleich dienen. Sie sind abhängig von

— dem Aktivierungszustand der DC-Platte während des Chromatographierens,

— der Temperatur des Chromatographiegefäßes.

Beispiele für auf einer Kieselgelschicht erhaltene Rf-Werte

	Fließmittel	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Thioglykolsäure	0,25	0,80
Thiomilchsäure	0,40	0,95
Dithioglykolsäure	0,00	0,35
3-Mercaptopropionsäure	0,45	0,95
Thioglycerin	0,45	0,35

5. QUANTITATIVE BESTIMMUNG (*)

Die Bestimmung beginnt immer mit der Jodometrie.

5.1. ***Jodometrie***

5.1.1. *Prinzip*

Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Oxidation der SH-Gruppe durch I_2 in saurem Medium nach folgender Gleichung:

$$2\ HOOC\text{-}CH_2SH + I_2 \rightarrow (HOOC\text{-}CH_2\text{-}S)_2 + 2\ I^- + 2\ H^+$$

5.1.2. *Reagenzien*

Jodlösung 0,1 N.

(*) *Bemerkung:* Die Bestimmung der Thioglykolsäure muß an einem noch nicht verwendeten Produkt aus einem frisch geöffneten Behälter zur Vermeidung von Oxidation durchgeführt werden.

5.1.3. *Geräte*

Übliche Laborgeräte.

5.1.4. *Verfahren*

Wäge in einen 150 ml-Erlenmeyer-Kolben mit Stopfen, der 50 ml destilliertes Wasser enthält, etwa 0,5 bis 1 g der Probe genau ein. Füge 5 ml der Salzsäure (4.1.1.2) (pH-Wert der Lösung etwa 0) hinzu und titriere mit der 0,1 N-Jodlösung (5.1.2) bis zum Auftreten einer Gelbfärbung. Es kann auch ein Indikator verwendet werden (z.B. Stärkelösung oder Tetrachlorkohlenstoff).

5.1.5. *Berechnung*

Der Gehalt an Thioglykolsäure wird nach folgender Formel berechnet:

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

m: Masse in g der untersuchten Probe,

n: Volumen der verbrauchten 0,1 N-Jodlösung.

5.1.6. *Bemerkungen*

Liegt das für Thioglykolsäure errechnete Ergebnis um 0,1 % oder mehr unter der zulässigen Höchstmenge, so erübrigt es sich, weitere quantitative Bestimmungen vorzunehmen.

Ist das Ergebnis gleich oder höher als die zulässige Höchstmenge und hat der qualitative Nachweis die Anwesenheit weiterer Reduktionsmittel angezeigt, so muß eine weitere quantitative Bestimmung durch Gaschromatographie durchgeführt werden.

5.2. ***Gaschromatographie***

5.2.1. *Prinzip*

Die Thioglykolsäure wird durch Fällen mit Cadmium-di(acetat)-Lösung von der Matrix getrennt.

Nach Methylierung durch Diazomethan — *in situ* hergestellt oder zuvor in etherischer Lösung bereitet — wird das Methylderivat der Thioglykolsäure quantitativ durch Gas-Flüssig-Chromatographie mit Methylcaprylat als interner Standard bestimmt.

5.2.2. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

5.2.2.1. Thioglykolsäure 98 %.

5.2.2.2. Salzsäure konzentriert (d_4^{20} = 1,19).

5.2.2.3. Methanol.

5.2.2.4. Cadmiumdi(acetat) · $2H_2O$, 10 % (m/v) in Wasser.

5.2.2.5. Methylcaprylatlösung, 2 % (m/v) in Methanol.

5.2.2.6. Acetat-Pufferlösung — pH 5 :

Natriumacetat, 3 H_2O: 77 g,
Eisessig: 27,5 ml,
mit entmineralisiertem Wasser zu 1 l auffüllen.

5.2.2.7. Salzsäurelösung, 3 N in Methanol, frisch hergestellt.

5.2.2.8. N-Methyl-N-Nitroso-N'-Nitroguanidin.

5.2.2.9. Natronlauge 5 N.

5.2.2.10. Jodlösung 0,1 N.

5.2.2.11. Diethylether.

5.2.2.12. Diazomethanlösung, hergestellt aus dem N-Methyl-N-Nitroso-p-Toluolsulfonamid (Fieser, Reagents for Organic Synthesis Ed. Wiley 1967).

Die Lösung enthält etwa 1,5 g Diazomethan in 100 ml Ether (5.2.2.11).

Diazomethan ist ein giftiges und sehr instabiles Gas; es ist deshalb erforderlich, alle Handhabungen unter einem starken Abzug durchzuführen und die Verwendung von Geräten mit Schliffverbindungen zu vermeiden (es gibt spezielle für diesen Zweck bestimmte Geräte).

5.2.3. *Geräte*

5.2.3.1. Übliches Laborgerät.

5.2.3.2. Gerät zur *in situ*-Herstellung von Diazomethan (Anal. Chem. *45*, 1973, 2302).

5.2.3.3. Gerät zur Herstellung von Diazomethan nach Fieser.

5.2.4. *Probenvorbereitung*

Wäge in ein 50 ml Zentrifugenglas die Probe genau ein, die der vermuteten Thioglykolsäuremenge von 50 bis 70 mg entspricht. Mit einigen Tropfen konzentrierter HCL (5.2.2.2) bis zum Erreichen eines pH-Wertes ~ 3 ansäuern.

Füge hinzu: 5 ml entmineralisiertes Wasser,
10 ml Acetatpuffer (5.2.2.6).

Mit Indikatorpapier nachprüfen, daß der pH-Wert etwa 5 beträgt.

Dann: 5 ml Cadmiumdi(acetat)lösung (5.2.2.4).

10 Minuten stehen lassen und dann mindestens 15 Minuten lang bei 4 000 g zentrifugieren.

Die obenstehende Flüssigkeit abtrennen. Diese kann (z.B. bei einer Creme) unlösliches Fett enthalten, letzteres darf nicht mit den am Boden des Röhrchens angesammelten Cadmiummercaptid verwechselt werden. Zu dem Obenschwimmenden einige Tropfen Cadmiumdi(acetat)lösung (5.2.2.4) hinzugeben und nachprüfen, daß keine Ausfällung mehr eintritt.

Wenn der vorausgegangene Nachweis ergeben hat, daß außer Thiolen keine anderen Reduktionsmittel vorliegen, so ist im Obenschwimmenden durch Jodometrie nachzuprüfen, daß die hierin vorliegende Thiolmenge 6 bis 8 % der anfänglichen Menge nicht überschreitet.

In das den Niederschlag enthaltende Zentrifugenglas 10 ml Methanol (5.2.2.3) geben, den Niederschlag mit einem Glasstab gut umrühren und erneut mindestens 15 Minuten lang bei 4 000 g zentrifugieren.

Das Obenschwimmende dekantieren und mittels Jodometrie auf die vollständige Entfernung von Thiolen prüfen.

Wasche den Niederschlag ein zweites Mal nach gleichem Verfahren.

Anschließend werden in das Zentrifugenglas gegeben:

— 2 ml der Methylcaprylat-Lösung (5.2.2.5),

— 5 ml der methanolischen Salzsäure (5.2.2.7).

Das Mercaptid vollständig auflösen (dabei kann eine geringe Menge der Ausfällung ungelöst zurückbleiben). Dies ist Lösung S.

In einem aliquoten Teil der Lösung S überprüfe jodometrisch, daß der Thiolgehalt mindestens 90 % des unter 5.1 erhaltenen beträgt.

5.2.5. *Methylierung*

Die Methylierung wird entweder mit *in situ* hergestelltem (5.2.5.1) oder mit zuvor bereiteter Diazomethanlösung (5.2.5.2) durchgeführt.

5.2.5.1 Methylierung — in situ

Gib 50 µl der Lösung S in das 1 ml Ether (5.2.2.11) enthaltende Methylierungsgefäß (5.2.3.2) und methyliere nach Methode 5.2.3.2 mit etwa 300 mg N-Methyl-N-Nitroso-N'-Nitroguanidin (5.2.2.8).

Nach 15 Minuten (die Etherlösung muß gelb sein und somit einen Überschuß an Diazomethan anzeigen) überführe die Probenlösung in ein fest verschließbares 2 ml Gefäß. Über Nacht im Kühlschrank aufbewahren. Methyliere zwei Proben gleichzeitig.

5.2.5.2. Methylierung mit zuvor hergestellter Diazomethanlösung

Gib in einen mit Stopfen versehenen 5 ml Kolben 1 ml Diazomethanlösung (5.2.2.12) und dann 50 µl der Lösung S.

Über Nacht im Kühlschrank stehen lassen.

5.2.6. *Herstellung des Standards*

Stelle eine Standardlösung von Thioglykolsäure bekannten Gehalts her, die etwa 60 mg reine Thioglykolsäure in 2 ml enthält. Dies ist Lösung E.

Fälle, prüfe und methyliere, wie unter 5.2.4 und 5.2.5 beschrieben.

5.2.7 *Gaschromatographische Bedingungen*

5.2.7.1. Säule: rostfreier Stahl
Länge: 2 m
Durchmesser: 3 mm

5.2.7.2. Säulenfüllung: 20 % Didecylphthalat/Chromosorb WAW 80-100 mesh.

5.2.7.3. Detektor: FID.

Eine geeignete Empfindlichkeitseinstellung des Elektrometers des FID ist 8×10^{-10} A.

5.2.7.4. Gase:

Trägergas: Stickstoff 2,2 bar,
Durchfluß 35 ml/min.
Detektor: die zu verwendenden Gase entsprechend den Angaben des Herstellers

5.2.7.5. Temperaturen:

Injektor: 200 °C,
Detektor: 200 °C,
Säule: 90 °C.

5.2.7.6. Schreibervorschub: 5 mm/min

5.2.7.7. Einspritzmenge: 3 µl; fünf Einspritzungen je Probe

5.2.7.8. Die Chromatographiebedingungen sind Richtwerte. Mit ihnen ist eine Auflösung R gleich oder besser als 1,5 zu erreichen.

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

r_1 und r_2 : Retentionszeiten in Minuten,
W_1 und W_2: Peakbreite bei halber Höhe in mm,
d' : Schreibervorschub in mm/min.

5.2.8. *Berechnung*

5.2.8.1. Responsefaktor der Thioglykolsäure

Es bedeuten:

t: Thioglykolsäure

k_t: ihr Proportionalitätsfaktor,

m'_t: ihre Masse in mg in der Mischung,

S'_t: ihre Peakfläche;

c: Methylcaprylat

m'_c: seine Masse in mg in der Mischung,

S'_c: seine Peakfläche

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

Dieser Responsefaktor ist abhängig von der verwendeten Apparatur.

5.2.8.2. Gehalt an Thioglykolsäure in der Probe

Es bedeuten:

t: Thioglykolsäure

k_t: ihr Proportionalitätsfaktor,

S_t: ihre Peakfläche;

c: Methylcaprylat

m_c: seine Masse (in mg) in der Mischung,

S_c: seine Peakfläche;

M: die Masse (in mg) der Probe.

% (m/m) Thioglykolsäure in der Probe:

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

6. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Thioglykolsäuregehalt von 8 % (m/m) darf die Differenz zwischen zwei an der gleichen Probe durchgeführten Parallelbestimmungen 0,8 % (m/m) nicht überschreiten.

Anlage 19

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON HEXACHLOROPHEN

A. IDENTIFIZIERUNG

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Verfahren ist für alle kosmetischen Mittel anwendbar.

2. PRINZIP

Hexachlorophen in der Probe wird mit Ethylacetat extrahiert und durch Dünnschichtchromatographie nachgewiesen.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Schwefelsäure 4 M.

3.2. Celite AW.

3.3. Ethylacetat.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

3.4. Fließmittel:

Benzol mit 1 % v/v Eisessig.

3.5. Sprühmittel 1:

Rhodamin-B-Lösung: 100 mg Rhodamin B werden in einer Mischung von 150 ml Diethylether, 70 ml absolutem Ethanol und 16 ml Wasser gelöst.

3.6. Sprühmittel 2:

2,6-Dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienonlösung: 400 mg 2,6-Dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienon in 100 ml Methanol lösen (täglich neu zubereiten) Natriumkarbonatlösung: 10 g Natriumkarbonat in 100 ml entmineralisiertem Wasser lösen.

3.7. Referenzlösung:

0,05 % m/v Lösung von Hexachlorophen in Ethylacetat (3.3).

4. GERÄTE

4.1. DC-Fertigplatten Kieselgel F_{254}, 20 × 20 cm.

4.2. Übliches Gerät für Dünnschichtchromatographie.

4.3. Auf 26 °C temperierbares Bad.

5. VORBEREITUNG DER PROBE

5.1. 1 g der homogenisierten Probe mit 1 g Celite AW (3.2) und 1 ml Schwefelsäure (3.1) gründlich mischen.

5.2. Zwei Stunden lang bei 100 °C trocknen lassen.

5.3. Abkühlen lassen und getrockneten Rückstand fein pulverisieren.

5.4. Zweimal mit jeweils 10 ml Ethylacetat (3.3) extrahieren, nach jeder Extraktion zentrifugieren und die Ethylacetatschichten vereinigen.

5.5. Bei 60 °C eindampfen lassen.

5.6. Den Rückstand in 2 ml Ethylacetat lösen.

6. VERFAHREN

6.1. 2 µl der Probelösung (5.6) und 2 µl der Referenzlösung (3.7) auf eine DC-Platte (4.1) auftragen.

6.2. Das auf 26 °C temperierte Chromatographiegefäß mit dem Fließmittel (3.4) sättigen.

6.3. Die DC-Platte in das Gefäß stellen und bis zu einer Höhe von 15 cm entwickeln lassen.

6.4. Die DC-Platte entnehmen und im Trockenschrank bei 105 °C trocknen lassen.

6.5. Entwicklung:

Hexachlorophenflecken nach 6.5.1 oder 6.5.2 sichtbar machen.

6.5.1. Sprühmittel 1 (3.5) gleichmäßig auf die Platte sprühen. Nach 30 Minuten Platte unter UV-Licht (254 nm) betrachten.

6.5.2. Sprühmittel 2 (3.6):

Die Platte gleichmäßig mit der 2,6-Dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienonlösung des Sprühmittels 2 (3.6) besprühen. Anschließend mit Natriumkarbonatlösung (3.6) sprühen. Platte nach 10minütiger Trocknung bei Raumtemperatur im Tageslicht betrachten.

7. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

7.1. Sprühmittel 1 (3.5):

Hexachlorophen erscheint als bläulicher Fleck auf einem gelb-orange fluoreszierenden Hintergrund, es hat einen Rf-Wert von etwa 0,5.

7.2. Sprühmittel 2 (3.6):

Hexachlorophen erscheint als türkisfarbener Fleck auf weißem Grund mit einem Rf-Wert von etwa 0,5.

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Verfahren ist für alle kosmetischen Mittel anwendbar.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Hexachlorophen wird in Massenprozent (m/m) ausgedrückt.

3. PRINZIP

Hexachlorophen wird nach Umwandlung in das Methylderivat gaschromatographisch mit einem Elektroneneinfangdetektor bestimmt. Bei diesem Verfahren wird ein interner Standard verwendet.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Ethylacetat.

4.2. N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid (Diazald).

4.3. Diethylether.

4.4. Methanol.

4.5. 2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol (Carbitol).

4.6. Ameisensäure.

4.7. Kaliumhydroxid — wässerige Lösung 50 % m/m, unmittelbar vor Gebrauch zubereiten.

4.8. Hexan zur Spektroskopie.

4.9. Bromchlorophen (Standard Nr. 1).

4.10. 4,4',6,6'-Tetrachlor-2,2'-thiodiphenol (Standard Nr. 2).

4.11. 2;4,4'-Trichlor-2-hydroxy-diphenylether (Standard Nr. 3).

4.12. Aceton.

4.13. Schwefelsäure 4 M.

4.14. Celite AW.

4.15. Ameisensäure-Ethylacetatlösung 10 % v/v.

4.16. Hexachlorophen.

5. GERÄTE

5.1. Übliche Laborgeräte.

5.2. Apparatur für die Herstellung von Diazomethan — Millimole Size — (vgl. Anal. Chem. 45, 2302 — 3, 1973).

5.3. Gaschromatograph mit ^{63}Ni-Elektroneneinfangdetektor.

6. VERFAHREN

6.1. ***Zubereitung von Standardlösungen***

Der Standard ist so zu wählen, daß er durch keinen in dem zu analysierenden Produkt enthaltenen Stoff gestört wird. Standard Nr. 1 ist normalerweise am besten geeignet.

6.1.1. Etwa 50 mg des Standards Nr. 1 (4.9), 2 (4.10) oder 3 (4.11) und 50 mg Hexachlorophen (4.16) genau wägen und in einen 100-ml-Meßkolben geben. Mit Ethylacetat auffüllen (Lösung A). 10 ml der Lösung A mit Ethylacetat auf 100 ml verdünnen (Lösung B).

6.1.2. Etwa 50 mg des Standards Nr. 1 (4.9), 2 (4.10) oder 3 (4.11) genau wägen und in einen 100-ml-Meßkolben geben. Mit Ethylacetat auffüllen (Lösung C).

6.2. ***Zubereitung der Probe*** (1)

1 g der homogenisierten Probe wird genau gewogen und gründlich mit 1 ml Schwefelsäure (4.13), 15 ml Aceton (4.12) und 8 g Celite AW (4.14) gemischt. Die

(1) Da Hexachlorophen in den verschiedensten Erzeugnissen vorhanden sein kann, muß zuerst die Wiederfindung von Hexachlorophen in der Probe mit diesem Verfahren ermittelt werden, bevor Ergebnisse festgehalten werden. Wird nur eine geringe Wiederfindung ermittelt, so können Änderungen, wie andere Lösungsmittel (Benzol anstelle von Ethylacetat) usw. mit Zustimmung der beteiligten Partner vorgenommen werden.

Mischung wird 30 Minuten lang auf dem Dampfbad luftgetrocknet, anschließend 1 1/2 Stunden in einem Umluft-Trockenschrank getrocknet. Abkühlen, den Rückstand zu Pulver fein zerreiben und in eine Glassäule überführen. Mit Ethylacetat eluieren und 100 ml auffangen. 2 ml der internen Standardlösung (6.1.2) hinzufügen.

6.3. ***Methylierung der Probe***

Alle Reagenzien und Geräte zwei Stunden lang auf eine Temperatur zwischen 0 °C und 4 °C kühlen. In den Außenteil der Diazomethanapparatur (5.2) 1,2 ml der nach 6.2 erhaltenen Lösung und 0,1 ml Methanol (4.4) füllen.

Etwa 200 mg Diazald (4.2) in den mittleren Behälter füllen, 1 ml Carbitol (4.5) und 1 ml Diethylether (4.3) hinzufügen und lösen. Die Apparatur zusammensetzen, halb in ein Bad von 0 °C tauchen und mit einer Spritze etwa 1 ml der gekühlten Kaliumhydroxidlösung (4.7) in den zentralen Behälter einführen.

Durch Bildung von Diazomethan färbt sich die Lösung gelb; die Gelbfärbung muß beständig sein. Hält sich die gelbe Farbe nicht, so wird der Methylierungsvorgang mit weiteren 200 mg Diazald (4.2) wiederholt (1).

Nach 15 Minuten die Apparatur aus dem Bad nehmen und bei Raumtemperatur zwölf Stunden lang geschlossen stehen lassen. Dann die Apparatur öffnen, das überschüssige Diazomethan durch Hinzufügen weniger Tropfen einer 10 %-v/v Lösung von Ameisensäure in Ethylacetat (4.15) entfernen und die organische Lösung in einen 25-ml-Meßkolben bringen. Mit Hexan (4.8) auffüllen.

1,5 µl dieser Lösung in den Chromatographen einspritzen.

6.4. ***Methylierung der Standardlösung***

Alle Reagenzien und Geräte werden zwei Stunden lang auf 0 °C bis 4 °C gekühlt. In den äußeren Teil der Diazomethanapparatur werden eingefüllt:

0,2 ml Lösung B (6.1.1),

1,0 ml Ethylacetat (4.1),

0,1 ml Methanol (4.4).

Den Methylierungsvorgang wie in 6.3 beschrieben fortsetzen. 1,5 µl der resultierenden Lösung in den Chromatographen einspritzen.

7. GASCHROMATOGRAPHIEBEDINGUNGEN

Die stationäre Phase muß ein Auflösungsvermögen R von mindestens 1,5 ergeben.

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

wobei:

r_1 und r_2: Retentionszeiten in Minuten,
W_1 und W_2: Peakbreite bei halber Höhe in mm,
d': Schreibervorschub in mm/min.

Unter den folgenden Verfahrensbedingungen kann dieses Ergebnis erzielt werden:

Säule: rostfreier Stahl.
Länge: 170 cm.
Durchmesser: 3 mm.
Säulenfüllung: 10 % OV 17 auf Chromosorb WAW 80-100 mesh.
Temperaturen: Säule, Detektor, Injektor: 280 °C.
Trägergas: Stickstoff, sauerstofffrei; Druck: 2,3 bar, Durchsatz: 30 ml/min.

(1) Die Fortdauer der Gelbfärbung weist auf einen Überschuß an Diazomethan hin, der für eine vollständige Methylierung der Probe notwendig ist.

8. BERECHNUNG

8.1. *Proportionalitätskoeffizient von Hexachlorophen*

Dieser Koeffizient wird entsprechend dem gewählten Standard im Verhältnis zur Standardmischung berechnet. Dabei ist:

h: Hexachlorophen,

k_h: sein Proportionalitätskoeffizient,

m'_h: seine Masse in der Standardmischung in g,

A'_h: seine Peakfläche,

s: der gewählte Standard,

m'_s: seine Masse in der Standardmischung in g,

A'_s: seine Peakfläche;

daraus folgt:

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

8.2. *Gehalt von Hexachlorophen in der Probe*

h: Hexachlorophen,

k_h: sein Proportionalitätskoeffizient,

A_h: seine Peakfläche,

s: der gewählte Standard,

m_s: seine Masse in der Mischung in g,

A_s: seine Peakfläche,

M: Masse der Probe in g;

daraus folgt:

prozentualer Massenanteil von Hexachlorophen in der Probe:

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

9. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Hexachlorophengehalt von 0,1 % (m/m) darf die Differenz zwischen zwei an der gleichen Probe durchgeführten Parallelbestimmungen 0,005 % nicht überschreiten.

Anlage 20

QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES TOSYLCHLORAMIDUM NATRICUM (CHLORAMIN T)

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die quantitative dünnschichtchromatographische Bestimmung von Tosylchloramidum natricum (Chloramin T) in kosmetischen Erzeugnissen.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Chloramin T wird in Massenprozent (m/m) ausgedrückt.

3. PRINZIP

Chloramin T wird durch Kochen mit Salzsäure quantitativ zu 4-Toluolsulfonamid hydrolysiert. Das gebildete Sulfonamid wird nach dünnschichtchromatographischer Trennung photodensitometrisch bestimmt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Tosylchloramidum natricum (Chloramin T).

4.2. 4-Toluolsulfonamid-Vergleichslösung: 50 mg 4-Toluolsulfonamid in 100 ml Ethanol (4.5).

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

4.4. Diethylether.

4.5. Ethanol 96 % (v/v).

4.6. ***Fließmittel***

4.6.1. 1-Butanol/Ethanol (4.5)/Wasser 40 : 4 : 9 (v/v/v)

oder

4.6.2. Chloroform/Aceton 6 : 4 (v/v).

4.7. DC-Fertigplatten, Kieselgel 60 ohne Fluoreszenzindikator.

4.8. Kaliumpermanganat.

4.9. Salzsäure 15 % (m/m).

4.10. Sprühreagenz: 1%ige Lösung (m/v) von 2-Toluidin in Ethanol (4.5).

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät.

5.2. Ausrüstung für die Dünnschichtchromatographie.

5.3. Photodensitometer.

6. VERFAHREN

6.1. ***Hydrolyse***

In einen 50-ml-Kolben werden etwa 1 g der Probe (m) genau eingewogen, 5 ml Wasser und 5 ml Salzsäure (4.3) zugesetzt und 1 Stunde unter Rückfluß gekocht. Die noch warme Suspension wird sofort mit Wasser in einen 50-ml-Meßkolben überführt. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Anschließend wird mindestens fünf Minuten bei 3 000 U/min zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit filtriert.

6.2. ***Extraktion***

6.2.1. 30,0 ml des Filtrats werden entnommen und dreimal mit je 15 ml Diethylether (4.4) extrahiert. Die Etherextrakte werden in einem 50-ml-Meßkolben gesammelt und mit Diethylether (4.4) aufgefüllt. (Falls erforderlich wird der Etherextrakt getrocknet).

6.2.2. 25,0 ml des Etherextraktes werden unter Stickstoff zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wird mit 1,00 ml Ethanol (4.5) wieder aufgenommen.

6.3. ***Dünnschichtchromatographie***

6.3.1. 20 µl des in Ethanol (4.5) gelösten Rückstandes werden punktförmig auf eine Dünnschichtplatte (4.7) aufgetragen. Ebenso werden 8, 12, 16 und 20 µl der 4-Toluolsulfonamid-Vergleichslösung (4.2) aufgetragen.

6.3.2. Die Platte wird bis zu einer Höhe von 15 cm im Fließmittel (4.6.1 oder 4.6.2) entwickelt.

6.3.3. Nach vollständiger Verdunstung des Fließmittels bringt man die Platte für zwei bis drei Minuten in eine Chlordampfatmosphäre, die man durch Aufgießen von ca. 100 ml Salzsäure (4.9) auf ca. 2 g Kaliumpermanganat (4.8) in einem geschlossenen Gefäß erhält.

Der Chlorüberschuß wird entfernt, indem man die Platte mindestens fünf Minuten auf 100 °C erwärmt. Anschließend wird die Platte mit dem Sprühreagenz (4.10) besprüht.

6.4. ***Messung***

Nach etwa 1 Stunde wird die Intensität der Färbung photodensitometrisch bei 525 nm bestimmt.

6.5. ***Erstellung der Eichgeraden***

Die für die vier 4-Toluolsulfonamidflecken ermittelten Peakhöhenwerte werden graphisch gegen die entsprechenden 4-Toluolsulfonamidmengen (d.h. 4, 6, 8, 10 µg 4-Toluolsulfonamid pro Fleck) aufgetragen.

7. ANMERKUNG

Die Hydrolyse kann kontrolliert werden, indem man 0,1- und 0,2%ige Lösungen (m/v) von Chloramin T (4.1) wie unter Ziffer 6 behandelt.

8. BERECHNUNG

Der in Massenprozent ausgedrückte Gehalt der Probe an Chloramin T wird nach folgender Formel berechnet:

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

dabei sind:

1,33: Umrechnungsfaktor 4-Toluolsulfonamid/Chloramin T,
a: aus der Eichgeraden abgelesene Menge 4-Toluolsulfonamid der Probe in µg,
m: Masse der Probe in g.

9. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt an Chloramin T von 0,2 % (m/m) dürfen die Ergebnisse von zwei mit der gleichen Probe parallel durchgeführten Bestimmungen höchstens um einen absoluten Wert von 0,03 % voneinander abweichen.

Anlage 21

QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES GESAMTFLUORIDS IN ZAHNPASTEN

1. ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Verfahren dient der Bestimmung des Gesamtfluoridgehalts in Zahnpasten. Es eignet sich für Gehalte bis zu 0,25 %.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Fluorid wird in Massenprozent ausgedrückt.

3. PRINZIP

Die Bestimmung erfolgt gaschromatographisch. Das Fluorid wird durch direkte Reaktion mit Triethylchlorsilan (TECS) in saurer Lösung zu Triethylfluorsilan (TEFS) umgewandelt und gleichzeitig mit Xylol, das Cyclohexan als inneren Standard enthält, extrahiert.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Natriumfluorid, bei 120 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

4.2. Wasser, doppelt destilliert oder von vergleichbarer Qualität.

4.3. Konzentrierte Salzsäure $d_4^{20} = 1{,}19$.

4.4. Cyclohexan (CH).

4.5. Xylol, das im Chromatrogramm vor dem Lösungsmittelpeak keine Peaks enthält, wenn man unter den gleichen Bedingungen wie bei der Probe chromatographiert. Falls erforderlich, durch Destillation reinigen (5.8).

(1) Siehe ISO-Norm 4725.

4.6. Triethylchlorsilan (TECS Merck oder gleichwertiges Erzeugnis).

4.7. ***Fluorid-Standardlösungen***

4.7.1. Stammlösung:

0,250 mg F^-/ml. 138,1 mg Natriumfluorid (4.1) genau einwägen und in Wasser (4.2) lösen. Lösung quantitativ in einen 250-ml-Meßkolben (5.5) geben, bis zur Marke mit Wasser (4.2) auffüllen und mischen.

4.7.2 Verdünnte Stammlösung:

0,050 mg F^-/ml. Mit der Pipette 20,0 ml Stammlösung (4.7.1) in einen 100-ml-Meßkolben (5.5) geben, bis zur Marke auffüllen und mischen.

4.8. ***Interner Standard***

1,0 ml Cyclohexan (4.4) und 5,0 ml Xylol (4.5) mischen.

4.9. ***Triethylchlorsilan/Interne Standard-Lösung***

Mit einer Pipette (5.7) 0,6 ml TECS (4.6) und 0,12 ml des Internen Standards (4.8) in einen 10-ml-Meßkolben geben. Mit Xylol (4.5) zur Marke auffüllen und mischen. Täglich frisch zubereiten.

4.10. Perchlorsäure 70 % (m/v).

4.11. Perchlorsäure 20 % (m/v) in Wasser (4.2).

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät.

5.2. Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor.

5.3. Vortex-Homogenisator oder gleichwertiges Gerät.

5.4. Schüttelmaschine für Reagenzgläser oder gleichwertiges Gerät.

5.5. Meßkolben aus Polypropylen, 100 und 250 ml.

5.6. Zentrifugengläser aus Glas, 20 ml mit Schraubverschluß und Tefloneinlage oder gleichwertige Gläser und Verschlüsse durch mehrstündiges Auslaugen in Perchlorsäure (4.11) reinigen, anschließend fünfmal mit Wasser (4.2) spülen und bei 100 °C trocknen.

5.7. Pipette mit verstellbarem Volumen zwischen 50 und 200 µl mit Wegwerfspitzen.

5.8. Destillationsapparatur mit Schneider-Destillieraufsatz mit drei Kugeln oder vergleichbarer Vigreux-Kolonne.

6. VERFAHREN

6.1. *Vorbereitung der Probe*

6.1.1. Eine noch nicht geöffnete Tube Zahnpasta auswählen, aufschneiden und den gesamten Inhalt entnehmen. In einen Kunststoffbehälter geben, eingehend mischen und vor Verderb geschützt aufbewahren.

6.1.2. Genau 150 mg der Probe (m) in ein Zentrifugenglas (5.6) einwägen, 5 ml Wasser (4.2) hinzufügen und homogenisieren.

6.1.3. 1,0 ml Xylol (4.5) hinzugeben.

6.1.4. Tropfenweise 5 ml Salzsäure (4.3) hinzufügen und homogenisieren (5.3).

6.1.5. Mit einer Pipette 0,5 ml Triethylchlorsilan/Interne Standardlösung (4.9) in das Zentrifugenglas (5.6) geben.

6.1.6. Das Glas mit dem Schraubverschluß (5.6) verschließen und 45 Minuten lang mit 150 Erschütterungen pro Minute gründlich schütteln (5.4).

6.1.7. Zehn Minuten mit der Geschwindigkeit zentrifugieren, die erforderlich ist, um eine gute Phasentrennung zu erhalten. Das Glas öffnen, die organische Schicht entnehmen und 3 µl der organischen Phase in die Säule des Gaschromatographen (5.2) injizieren.

Anmerkung:

Nach etwa 20 Minuten sind alle Komponenten von der GC-Säule eluiert.

6.1.8. Einspritzung wiederholen, das durchschnittliche Verhältnis der Peakfläche A_{TEFS}/A_{CH} berechnen und die entsprechende Menge Fluorid in mg (m_1) aus der Eichgeraden (6.3) ablesen.

6.1.9. Gesamtfluoridgehalt der Probe in Massenprozent nach 7 berechnen.

6.2. *Chromatographiebedingungen*

6.2.1

Säule:	Edelstahl.
Länge:	180 cm.
Durchmesser:	3 mm.
Füllung:	Gaschrom Q 80-100 mesh.
Stationäre Phase:	Siliconöl DC 200 (oder vergleichbares): 20 %.

Die Säule wird jeweils über Nacht mit 25 ml Stickstoff/Minute bei 100 °C konditioniert.

Nach jeder vierten oder fünften Einspritzung muß die Säule 30 Minuten bei 100 °C ausgeheizt werden.

Temperaturen:

Säule:	70 °C.
Injektor:	150 °C.
Detektor:	250 °C.

Trägergas:

35 ml Stickstoff/Minute.

6.3. *Erstellung der Eichgeraden*

6.3.1. Mit einer Pipette werden 0, 1, 2, 3, 4 und 5 ml der verdünnten Fluorid-Stammlösung (4.7.2) in sechs verschiedene Zentrifugengläser (5.6) gegeben. Das Volumen wird mit Wasser (4.2) jeweils auf 5,0 ml ergänzt.

6.3.2. Es wird unter 6.1.3 bis 6.1.6 verfahren.

6.3.3. 3 µl der organischen Phase werden in die Säule des Gaschromatographen (5.2) injiziert.

6.3.4. Einspritzung wiederholen und das durchschnittliche Verhältnis der Peakflächen A_{TEFS}/A_{CH} berechnen.

6.3.5. Es wird eine Eichgerade erstellt aus der jeweiligen Konzentration des Fluorids (mg) der Standardlösung (6.3.1) und den dazugehörigen nach 6.3.4 berechneten Verhälnissen der Peakflächen A_{TEFS}/A_{CH}. Die Punkte auf dem Diagramm werden durch die geeignetste Gerade verbunden, die durch Regressionsanalyse zu ermitteln ist.

7. BERECHNUNG

Der in Massenprozent ausgedrückte Gehalt der Probe an Gesamtfluorid wird nach folgender Formel berechnet:

$$\%\,(m/m)\ \text{Fluorid}\ \frac{m_1}{m} \times 100$$

m: Masse der Probe in mg (6.1.2),

m_1: aus der Eichgeraden abgelesene Menge Fluorid der Probe in mg (6.1.8).

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Fluoridgehalt von 0,15 % (m/m) dürfen die Ergebnisse von zwei mit der gleichen Probe parallel durchgeführten Bestimmungen höchstens um einen absoluten Wert von 0,012 % voneinander abweichen.

Anlage 22

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON QUECKSILBERORGANISCHEN VERBINDUNGEN

ANWENDUNGSBEREICH

Die nachstehend beschriebene Methode kann zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von quecksilberorganischen Verbindungen angewandt werden, die als Konservierungsmittel in kosmetischen Erzeugnissen für die Augen verwendet werden. Sie gilt für Thiomersal (INN) (Natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoat) sowie für Phenylquecksilber und seine Salze (einschließlich Borat).

A. NACHWEIS

1. PRINZIP

Quecksilberorganische Verbindungen bilden Dithizonat-Komplexe. Nach Extraktion der Dithizonate mit Kohlenstofftetrachlorid wird ein Dünnschichtchromatogramm erstellt. Die Dithizonate zeigen sich auf dem Chromatogramm als orangefarbene Flecke.

2. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

2.1. Schwefelsäure 25 % (v/v).

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

2.2. 1,5-Diphenyl-3-thiocarbazon (Dithizon): 0,8 mg in 100 ml Kohlenstofftetrachlorid (2.4).

2.3. Stickstoff.

2.4. Kohlenstofftetrachlorid.

2.5. Fließmittel: Hexan/Aceton 90: 10 (v/v).

2.6. Standardlösungen (0,001 % in Wasser):

— Natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoat,
— Ethylquecksilberchlorid oder Methylquecksilberchlorid,
— Phenylquecksilbernitrat oder Phenylquecksilberacetat,
— Quecksilberdichlorid oder Quecksilberdi(acetat).

2.7. DC-Fertigplatten, Kieselgel 60 (z. B. Merck 5721 oder gleichwertige).

2.8. Natriumchlorid.

3. GERÄTE

3.1. Übliches Laborgerät.

3.2. Ausrüstung für die Dünnschichtchromatographie.

3.3. Phasentrennungsfilter.

4. VERFAHREN

4.1. ***Extraktion***

4.1.1. 1 g Probe und 20 ml destilliertes Wasser werden in einem Zentrifugenglas vermischt. Die Dispersion wird im Wasserbad auf 60 °C erwärmt. Nach Zugabe von 4 g Natriumchlorid (2.8) wird geschüttelt und abgekühlt.

4.1.2. Mindestens 20 Minuten bei 4 500 U/min zentrifugieren, um den größten Teil der festen Phase abzutrennen; in einem Scheidetrichter filtrieren und 0,25 ml Schwefelsäure (2.1) hinzufügen.

4.1.3. Mehrmals mit 2 bis 3 ml Dithizonlösung (2.2) extrahieren, bis die letzte organische Phase grün bleibt.

4.1.4. Die organischen Phasen durch ein Phasentrennungsfilter (3.3) filtrieren.

4.1.5. Unter Stickstoff (2.3) bis zur Trockene einengen.

4.1.6. In 0,5 ml Kohlenstofftetrachlorid (2.4) aufnehmen und 50 µl dieser Lösung sofort auf eine Dünnschichtplatte (2.7) auftragen (4.2.1).

4.2. ***Trennung und Bestimmung***

4.2.1. Gleichzeitig 10 ml der Standardlösungen (2.6) wie unter 4.1 behandeln und 50 µl dieser Lösungen (4.1.6) auf dieselbe Dünnschichtplatte auftragen.

4.2.2. Die Platte bis zu einer Höhe von 15 cm im Fließmittel (2.5) entwickeln. Die quecksilberorganischen Verbindungen erscheinen in Form von Farbflecken, deren Färbung stabil ist, sofern die Platte sofort nach Verdunstung des Fließmittels mit einer Glasplatte abgedeckt wird.

Folgende Rf-Werte wurden erhalten:

	Rf-Wert	Farbe
Thiomersal	0,33	Orange
Ethylquecksilberchlorid	0,29	Orange
Methylquecksilberchlorid	0,29	Orange
Phenylquecksilber und seine Salze	0,21	Orange
Quecksilberdichlorid	0,10	Orange
Quecksilberdi(acetat)	0,10	Orange
1,5-Diphenyl-3-thiocarbazon	0,09	rosa

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an quecksilberorganischen Verbindungen wird in Massenprozent (m/m) Quecksilber ausgedrückt.

2. PRINZIP

Diese Methode beschreibt die quantitative Bestimmung des Quecksilbers nach Mineralisierung. Es ist daher notwendig, vorher sicherzustellen, daß kein mineralisches Quecksilber in der Probe ist. Das freigesetzte Quecksilber wird durch flammenlose Atomabsorption bestimmt.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Konzentrierte Salpetersäure ($d_4^{20} = 1,41$).

3.2. Konzentrierte Schwefelsäure ($d_4^{20} = 1,84$).

3.3. Zweifachdestilliertes Wasser.

3.4. Kaliumpermanganat: Lösung 7 % (m/v).

3.5. Hydroxylammoniumchlorid: Lösung 1,5 % (m/v).

3.6. Dikaliumperoxodisulfat: Lösung 5 % (m/v).

3.7. Zinndichlorid: Lösung 10 % (m/v).

3.8. Konzentrierte Salzsäure (d_4^{20} = 1,18).

3.9. Mit 1%igem Palladiumdichlorid (m/m) imprägnierte Glaswolle.

4. GERÄTE

4.1. Übliche Laborgeräte.

4.2. Gerät für die Bestimmung von Quecksilber mit flammenloser Atomabsorption (Kaltverdampfungsverfahren) einschließlich der hierfür erforderlichen Gläser; Mindestlänge der Meßzelle: 10 cm.

5. VERFAHREN

Es sind alle für die Quecksilber-Spurenanalyse üblichen Vorsicherungsmaßnahmen zu ergreifen.

5.1. ***Mineralisierung***

5.1.1. Etwa 150 mg Probe in einen luftdicht verschließbaren Kolben genau einwägen (m). 10 ml Salpetersäure (3.1) hinzufügen, drei Stunden im Wasserbad auf 55 °C erwärmen und regelmäßig schütteln. Parallel dazu einen Blindversuch durchführen.

5.1.2. Nach Abkühlung 10 ml Schwefelsäure (3.2) hinzufügen und nochmals 30 Minuten in das Wasserbad (55 °C) stellen.

5.1.3. Den Kolben in ein Eisbad stellen und vorsichtig 20 ml Wasser (3.3) hinzugeben.

5.1.4. Portionsweise fügt man 2 ml Kaliumpermanganatlösung (3.4) hinzu, bis die Lösung gefärbt bleibt und stellt den Kolben nochmals 15 Minuten in das Wasserbad (55 °C).

5.1.5. Nach der Zugabe von 4 ml Dikaliumperoxodisulfatlösung (3.6) weitere 30 Minuten im Wasserbad (55 °C) erwärmen.

5.1.6. Abkühlen lassen und den Inhalt des Kolbens in einen 100 ml Meßkolben geben. Den Kolben mit 5 ml Hydroxylammoniumchlorid (3.5) spülen und anschließend viermal mit 10 ml Wasser (3.3) nachspülen. Die Lösung muß farblos sein. Mit Wasser (3.3) auf 100 ml auffüllen.

5.2. ***Bestimmung***

5.2.1. 10 ml der Lösung (5.1.6) entnehmen und in das Glasgefäß für die Quecksilberbestimmung mittels Kaltverdampfung (4.2) geben. Mit 100 ml Wasser (3.3) und anschließend 5 ml Schwefelsäure (3.2) sowie 5 ml Zinndichloridlösung (3.7) verdünnen. Nach jeder Stoffzugabe mischen.

30 Sekunden warten, bis alles in Ionenform vorhandene Quecksilber in metallisches Quecksilber überführt worden ist, das metallische Quecksilber mit einem Luftstrom in die Küvette des Instruments für die flammenlose Atomabsorptionsmessung (4.1) bringen und die Messung durchführen (n). n ist die gemessene Absorption.

5.2.2. Mit Palladiumdichlorid imprägnierte Glaswolle (3.9) zwischen Quecksilberreduktionsbehälter und Meßzelle des Instrumentes (4.2) bringen und den Vorgang von 5.2.1 wiederholen. Wenn der Meßwert nicht gleich Null ist, war die Mineralisierung unvollständig und muß wiederholt werden.

6. BERECHNUNG

Der Gehalt der Probe an Quecksilber ausgedrückt in Massenprozent wird nach folgender Formel berechnet:

$$\%\,(m/m)\ \text{Quecksilber} = \frac{n}{m}$$

n: Gehalt an Quecksilber in µg, der am Gerät abgelesen wird,

m: Masse der Probe in mg.

7. ANMERKUNG

7.1. Um eine bessere Mineralisierung zu erreichen, kann es erforderlich sein, die Probe vorher zu verdünnen.

7.2. Vermutet man eine Absorption des Quecksilbers durch das Substrat, ist die quantitative Bestimmung nach Standard-Addition durchzuführen.

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt an Quecksilber von 0,007 % (m/m) dürfen die Ergebnisse von zwei mit der gleichen Probe parallel durchgeführten Bestimmungen höchstens um einen absoluten Wert von 0,00035 % voneinander abweichen.

Anlage 23

QUANTITATIVE BESTIMMUNG DER ALKALI- UND ERDALKALISULFIDE

1. ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt die quantitative Bestimmung der Sulfide in kosmetischen Erzeugnissen. Die Anwesenheit von Thiolen und anderen reduzierenden Stoffen (einschließlich Sulfit) stört nicht.

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt der Probe an Sulfiden wird in Massenprozent Schwefel ausgedrückt.

3. PRINZIP

Nach dem Ansäuern der Probe wird der entstehende Schwefelwasserstoff mit Stickstoff ausgetrieben und als Cadmiumsulfid gefällt. Dieses wird filtriert, gewaschen und mittels Jodometrie quantitativ bestimmt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

4.1. Konzentrierte Salzsäure (d_4^{20} = 1,19).

4.2. Natriumthiosulfatlösung, 0,1 N.

4.3. Jodlösung 0,1 N.

4.4. Dinatriumsulfid.

4.5. Cadmiumdi(acetat).

4.6. Konzentrierter Ammoniak (d_4^{20} = 0,90).

4.7. Ammoniakalische Cadmiumacetat-Lösung: 10 g Cadmiumdi(acetat) (4.5) und etwa 50 ml Wasser zusammengeben, so lange Ammoniak (4.6) zugeben, bis der Niederschlag wieder gelöst ist (etwa 20 ml) und mit Wasser auf 100 ml auffüllen.

4.8. Stickstoff.

4.9. Ammoniak M.

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät.

5.2. 100 ml Dreihalskolben mit Normschliffen.

5.3. Zwei 150 ml Schlifferlenmeyerkolben mit Gaseinleitungs- und Gasauslaßrohr.

5.4. Schnellauftrichter.

6. VERFAHREN

6.1. ***Abtrennung der Sulfide***

6.1.1. Es wird eine zuvor noch nicht geöffnete Packung verwendet. Eine genau abgewogene Menge des Produktes (m), die höchstens 30 mg Sulfidionen enthalten darf, wird in einen Dreihalskolben (5.2) gegeben. Es werden 60 ml Wasser und zwei Tropfen Antischaummittel hinzugefügt.

6.1.2. In die beiden Erlenmeyerkolben (5.3) werden jeweils 50 ml der Lösung 4.7 gegeben.

6.1.3. Einen Tropftrichter, das Einleitungsrohr sowie das Auslaßrohr an den Dreihalskolben (5.2) anschließen. Das Auslaßrohr und die in Reihe angeordneten Erlenmeyerkolben werden mit PVC-Schläuchen verbunden.

Anmerkung:

Die Apparatur muß folgendermaßen auf ihre Dichtigkeit geprüft werden: Unter gleichen Versuchsbedingungen werden 10 ml einer Sulfidlösung, die aus Dinatriumsulfid (4.4) hergestellt wurde und X mg Sulfid (jodometrisch bestimmt) enthält, analysiert. Y ist die Menge Sulfid in mg, die am Ende der Bestimmung ermittelt wird. Der Unterschied der beiden Mengen X und Y darf 3 % nicht überschreiten.

6.1.4. 15 Minuten lang wird Stickstoff (4.8) mit einem Durchsatz von zwei Blasen pro Sekunde in den Dreihalskolben (5.2) eingeleitet, um die Luft auszutreiben.

6.1.5. Der Kolben wird auf 85 ± 5 °C erwärmt.

6.1.6. Nach Abstellen des Stickstoffstroms (4.8) werden 40 ml Salzsäure (4.1) zugetropft.

6.1.7. Nachdem fast die gesamte Säure hinzugegeben wurde, wird der Stickstoffstrom (4.8) erneut angestellt. Der verbleibende Rest der Säure verhindert ein Entweichen des Schwefelwasserstoffes.

6.1.8. Der Dreihalskolben (5.2) wird noch 30 Minuten erwärmt und anschließend abgekühlt. Der Stickstoff (4.8) wird weitere 1 $^1/_2$ Stunden durchgeleitet.

6.2. ***Titration***

6.2.1. Das Cadmiumsulfid wird über den Schnellauftrichter (5.4) abfiltriert.

6.2.2. Die Erlenmeyerkolben (5.3) werden zunächst mit Ammoniak (4.9) gespült und die Flüssigkeit auf das Filter gegeben. Dann werden die Kolben mit Wasser gespült und dieses zum Waschen des Niederschlags benutzt.

6.2.3. Der Niederschlag wird mit weiteren 100 ml Wasser gewaschen.

6.2.4. Das Filter wird in den ersten Erlenmeyerkolben gelegt, der zur Ausfällung diente. Es werden 25,0 ml (n_1) der Jodlösung (4.3), etwa 20 ml Salzsäure (4.1) und 50 ml Wasser hinzugefügt.

6.2.5. Das überschüssige Jod wird mit Natriumthiosulfatlösung (4.2) bestimmt (n_2).

7. BERECHNUNG

Der Sulfidgehalt der Probe wird nach folgender Formel berechnet und in Massenprozent (m/m) Schwefel ausgedrückt:

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

n_1: Volumen der verwendeten Jodlösung (4.3) in ml,
x_1: Normalität dieser Lösung,
n_2: Volumen der Natriumthiosulfatlösung (4.2) in ml,
x_2: Normalität dieser Lösung,
m: Masse der Probe in g.

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Schwefelgehalt von etwa 2 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier parallel ausgeführten Bestimmungen an der gleichen Probe 0,2 % absolut nicht überschreiten.

---

(1) Siehe ISO-Norm 5725.

Anlage 24

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON GLYCERIN-1-(4-AMINOBENZOAT)

A. IDENTIFIZIERUNG

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Verfahren dient zum Nachweis des Glycerin-1-(4-Aminobenzoats) oder Monoglycerinesters der 4-Aminobenzoesäure. Es gestattet ebenfalls den Nachweis des gegebenenfalls als Verunreinigung vorhandenen Ethylesters der 4-Aminobenzoesäure.

2. PRINZIP

Die Identifizierung erfolgt durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten mit Fluoreszenzindikator und Nachweis der primären Aminfunktion durch Bildung eines Diazofarbstoffes auf der Platte.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Lösungsmittelgemisch: Cyclohexan — Isopropanol — stabilisiertes Dichlormethan: 48 — 64 — 9 (v/v/v)

3.2. Fließmittelgemisch: Petrolether (40 — 60 °C) — Benzol — Aceton — Ammoniak (mindestens 25 % NH_3): 35 — 35 — 35 — 1 (v/v/v/v)

3.3. Sprühmittel: Lösung a): Natriumnitrit: 1,0 g in 100 ml 1 M HCl (kurz vor Gebrauch zuzubereiten)
Lösung b): 2-Naphthol: 0,2 g in 100 ml 1 M KOH

3.4. Standardlösungen: Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure: 0,05 g in 100 ml Lösungsmittelgemisch (3.1)

Ethylester der 4-Aminobenzoesäure: 0,05 g in 100 ml Lösungsmittelgemisch (3.1)

3.5. DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F 254, Schichtdicke 0,25 mm. 20 cm × 20 cm oder gleichwertiges

4. GERÄTE

4.1. Übliches Chromatographiegerät

4.2. Ultraschallbad

4.3. Millipore-Filter FH, 0,5 µm oder gleichwertiges

5. ARBEITSWEISE

5.1. **Probenvorbereitung**

1,5 g des zu analysierenden Stoffes in ein verschließbares graduiertes 10-ml-Gefäß einwägen und mit dem Lösungsmittelgemisch (3.1) auf 10 ml auffüllen. Gefäß verschließen und eine Stunde lang bei Zimmertemperatur ins Ultraschallbad stellen. Durch ein Millipore-Filter (4.3) filtrieren. Filtrat für die Chromatographie verwenden.

5.2. **Dünnschichtchromatographie**

10 µl des Filtrats (5.1) und je 10 µl der Standardlösungen (3.4) auf eine DC-Platte (3.5) auftragen. Chromatogramm in einem zuvor mit dem Fließmittelgemisch (3.2) gesättigten Gefäß 15 cm entwickeln. Die Platte bei Zimmertemperatur unter dem Abzug trocknen lassen.

5.3. **Nachweis**

5.3.1. Platte unter UV-Licht (254 nm) betrachten.

5.3.2. Die völlig trockene Platte mit Sprühmittel 3.3 Buchstabe a) besprühen. Bei Zimmertemperatur 1 Minute trocknen lassen und sofort danach Sprühmittel 3.3 Buchstabe b) sprühen. Platte im Trockenschrank bei 60 °C trocknen lassen. Die Flecken färben sich orange.

Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure: Rf ca. 0,07 Ethylester der 4-Aminobenzoesäure: Rf ca. 0,55

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Verfahren dient zur Bestimmung des Monoglycerinesters der 4-Aminobenzoesäure. Diese Methode gestattet ebenfalls die Bestimmung des Ethylesters der 4-Aminobenzoesäure.

Sie eignet sich zur Bestimmung von höchstens 5 % (m/m) Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure und 1 % (m/m) Ethylester der 4-Aminobenzoesäure.

2. DEFINITION

Der nach diesem Verfahren bestimmte Gehalt an Monoglycerinester und Ethylester der 4-Aminobenzoesäure wird als Massenprozent (% m/m) dargestellt.

3. PRINZIP

Nach geeigneter Vorbehandlung des zu analysierenden Produktes wird die Bestimmung mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchgeführt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein bzw. für HPLC geeignet sein.

4.1. Methanol

4.2. Kaliumdihydrogenorthophosphat KH_2PO_4

4.3. Zink-di(acetat) $Zn\ (CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$

4.4. Essigsäure, $d_4^{20} = 1{,}05$

4.5. Kaliumferrocyanid $K_4[Fe(CN_6] \cdot 3H_2O$

4.6. Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure

4.7. Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure

4.8. Ethylester der 4-Aminobenzoesäure (Benzocain)

4.9. Pufferlösung 0,02 M: 2,72 g Kaliumdihydrogenorthophosphat (4.2) in 1 l destilliertem Wasser lösen

4.10. Fließmittel: Pufferlösung (4.9) — Methanol (4.1) 61 — 39 (v/v)

Die Zusammensetzung dieses Fließmittels kann verändert werden, um einen Auflösungsfaktor $R \geq 1{,}5$ zu erhalten.

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

R_1 und R_2 = Retentionszeiten von 2 Peaks in min

W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Höhe in mm

d' = Papiervorschub in mm/min

4.11. Stammlösung für Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure: ungefähr 40 mg Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure in einen Meßkolben von 100 ml genau einwiegen und in 40 ml Methanol (4.1) lösen. Mit Pufferlösung (4.9) auffüllen und mischen.

4.12. Stammlösung für Ethylester der 4-Aminobenzoesäure: ungefähr 40 mg Ethylester der 4-Aminobenzoesäure in einen Meßkolben von 100 ml genau einwiegen und in 40 ml Methanol (4.1) lösen. Mit Pufferlösung (4.9) auffüllen und mischen.

4.13. Interne Standardlösung: 50 mg (q mg) Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure (4.6) auf 0,5 mg genau in einen 100-ml-Meßkolben einwägen und in 40 ml Methanol (4.1) lösen. Mit Pufferlösung (4.9) auffüllen und mischen.

4.14. Standardlösungen: Durch Lösen in 100 ml Fließmittel (4.10) vier Standardlösungen gemäß nachstehender Tabelle zubereiten:

Standardlösung	Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure		Ethylester der 4-Aminobenzoesäure		Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure	
	ml (4.11)	µg/ml (*)	ml (4.12)	µg/ml (*)	ml (4.13)	µg/ml (*)
I	2	8	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(*) Diese Werte sind richtungsweisend und entsprechen den genau gewogenen Lösungen 4.11, 4.12 und 4.13.

N.B.: Diese Lösungen können auf verschiedene Weise erreicht werden.

4.15. Carrez-I-Lösung: 26,5 g Kaliumferrocyanid (4.5) in Wasser lösen und auf 250 ml auffüllen.

4.16. Carrez-II-Lösung: 54,9 g Zink-di(acetat) (4.3) und 7.5 ml Essigsäure (4.4) in Wasser lösen und auf 250 ml auffüllen.

4.17. Lichrosorb RP 18, 5 µm oder gleichwertiges Erzeugnis.

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät

5.2. Flüssigchromatograph mit UV-Detektor mit variabler Wellenlänge und Säulenthermostat (45 °C)

5.3. Edelstahlsäule

Länge:	25 cm
Innendurchmesser:	4,6 mm
Säulenfüllung:	Lichrosorb RP 18 (4.17)

5.4. Ultraschallbad

6. VERFAHREN

6.1. **Probenvorbereitung**

6.1.1. Ungefähr 1 g (p g) der Probe in ein Becherglas von 100 ml genau einwiegen und 10 ml Methanol (4.1) hinzufügen.

6.1.2. Becherglas 20 Minuten in das Ultraschallbad (5.4) stellen und eine Suspension erzeugen. Diese Suspension mit höchstens 75 ml Fließmittel (4.10) quantitativ in einen Meßkolben von 100 ml umgießen. Nacheinander 1 ml Carrez-I-Lösung (4.15) und 1 ml Carrez-II-Lösung (4.16) hinzufügen und nach jeder Hinzugabe mischen.

Mit Fließmittel (4.10) auffüllen, nochmals mischen und durch ein Faltenfilter filtrieren.

6.1.3. Mit einer Pipette 3,0 ml des nach 6.1.2 erhaltenen Filtrats und 5,0 ml interne Standardlösung (4.13) in einen Meßkolben von 50 ml geben. Mit Fließmittel (4.10) auffüllen und mischen. Die so erhaltene Probelösung für die in 6.2 beschriebene chromatographische Analyse benutzen.

6.2. **Chromatographie**

6.2.1. Säulendurchfluß des Fließmittelgemischs (4.10) auf 1,2 ml/min einstellen und die Säulentemperatur auf 45 °C bringen.

6.2.2. Detektor (5.2) auf 274 nm einstellen.

6.2.3. 20 µl Probelösung (6.1.3) einspritzen und die Peakflächen messen.

6.3. **Eichkurven**

6.3.1. Von jeder der in 4.14 definierten Standardlösungen 20 µl nach 6.2.3 einspritzen und Peakflächen messen.

6.3.2. Für jede Konzentration ist das Verhältnis zwischen der Peakfläche des Monoglycerinesters der 4-Aminobenzoesäure und der Peakfläche des internen Standards zu berechnen. Zeichne die Eichkurve, indem diese Peakflächen-Verhältnisse auf der Ordinate und die entsprechenden Massenverhältnisse auf der Abszisse aufgetragen werden.

6.3.3. Entsprechend ist für den Ethylester der 4-Aminobenzoesäure zu verfahren.

7. BERECHNUNG

7.1. Für die in 6.2.3 erhaltenen Peakflächen-Verhältnisse können auf den nach 6.3 erhaltenen Eichkurven die entsprechenden Massenverhältnisse RP 1 und RP 2 abgelesen werden:

RP 1 = Massenverhältnis Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure/Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure

RP 2 = Massenverhältnis Ethylester der 4-Aminobenzoesäure/Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure

7.2. Anhand dieser Massenverhältnisse berechnet man den Gehalt an Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure und Ethylester der 4-Aminobenzoesäure als Massenprozent (% m/m) nach folgenden Formeln :

$$\% \text{ (m/m) Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure} = RP\,1 \times \frac{q}{6\,p}$$

$$\% \text{ (m/m) Ethylester der 4-Aminobenzoesäure} = RP\,2 \times \frac{q}{6\,p}$$

q = nach 4.13 eingewogene Menge Ethylester der 4-Hydroxybenzoesäure (interner Standard) in mg

p = nach 6.1.1 eingewogene Probemenge in g

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

8.1. Bei einem Gehalt an Monoglycerinester der 4-Aminobenzoesäure von 5 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen von zwei Parallelbestimmungen an der gleichen Probe 0,25 % nicht überschreiten.

8.2. Bei einem Gehalt an Ethylester der 4-Aminobenzoesäure von 1 % (m/m) darf der Unterschied zwischen den Ergebnissen von zwei Parallelbestimmungen an der gleichen Probe 0,10 % nicht überschreiten.

9. ANMERKUNGEN

9.1. Vor der eigentlichen Analyse vergewissere man sich, daß die Probe keine Verbindungen enthält, deren Peak auf dem Chromatogramm mit demjenigen des internen Standards zusammenfällt.

9.2. Um sicher zu sein, daß keine weiteren Interferenzen vorhanden sind, ist die Bestimmung zu wiederholen, wobei das Verhältnis des Methanol in der mobilen Phase um ± 10 % verändert werden kann.

Anlage 25

QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON CHLORBUTANOL

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode eignet sich für die Bestimmung von Chlorbutanol bis zu einer Höchstkonzentration von 0,5 % (m/m) in allen kosmetischen Mitteln (mit Ausnahme von Aerosolen).

2. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt an Chlorbutanol wird als Massenprozent (% m/m) des Produktes angegeben.

3. PRINZIP

Nach geeigneter Behandlung des zu untersuchenden Stoffes wird die Bestimmung durch Gaschromatographie in Gegenwart von 2,2,2-Trichlorethanol als internem Standard durchgeführt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

4.1. Chlorbutanol (1,1,1-Trichlor-2-methyl-propan-2-ol,Hemihydrat)

4.2. 2,2,2-Trichlorethanol

4.3. Ethanol absolut

4.4. Standardlösung von Chlorbutanol : 0,025 g in 100 ml Ethanol (4.3)

4.5. Interne Standardlösung von 2,2,2-Trichlorethanol : 0,004 g in 100 ml Ethanol (4.3)

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät

5.2. Gaschromatograph mit ^{63}Ni-Elektroneneinfangdetektor

6. VERFAHREN

6.1. Vorbereitung der Proben : Zwischen 0,1 g und 0,3 g der Probe (p g) in einen 100-ml-Meßkolben genau einwägen. In Ethanol (4.3) lösen, 1 ml der internen Standardlösung (4.5) hinzufügen und mit Ethanol auffüllen.

(1) Nach der Norm ISO 5725.

6.2. **Gaschromatographie-Bedingungen**

6.2.1. Die Bedingungen müssen so gewählt sein, daß der Auflösungsfaktor R ≥ 1,5 ist

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

R_1 und R_2 = Retentionszeit von 2 Peaks in min

W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Peakhöhe in mm

d' = Papiervorschub in mm/min

6.2.2. Folgende Verfahrensbedingungen führen zu den gewünschten Ergebnissen :

Säule	I	II
Typ :	Glassäule	Edelstahlsäule
Länge :	1,80 m	3 m
Innendurchmesser :	3 mm	3 mm
Stationäre Phase :	10 % Carbowax 20 M TPA auf Gaschrom Q 80-100 mesh	5 % OV 17 auf Chromsorb WAW DMCS 80-100 mesh
Konditionierung :	2-3 Tage bei 190 °C	
Temperatur :		
— Injektor :	200 °C	150 °C
— Säule :	150 °C	100 °C
— Detektor :	200 °C	150 °C
Trägergas :	Stickstoff	Argon-Methan (95/5 v/v)
Durchsatz :	35 ml/min	32 ml/min

6.3. **Eichkurve**

Zur Herstellung der Standardlösungen werden in fünf 100-ml-Meßkolben jeweils 1 ml interne Standardlösung (4.5) gegeben, 0,20 ; 0,30 ; 0,40 ; 0,50 bzw. 0,60 ml der Chlorbutanol-Standardlösung (4.4) hinzugefügt und mit Ethanol (4.3) aufgefüllt.

Jeweils 1 µl von jeder dieser Lösungen werden unter den in 6.2.2 beschriebenen Arbeitsbedingungen in den Gaschromatographen injiziert. Man erstellt eine Eichkurve, indem das Massenverhältnis Chlorbutanol/2,2,2-Trichlorethanol als Abszisse gegen das Verhältnis der entsprechenden Peakflächen als Ordinate aufgetragen wird.

6.4. 1 µl der nach 6.1 gewonnenen Lösung injizieren und unter gleichen Bedingungen (6.2.2) weiterverfahren.

7. BERECHNUNG

7.1. Berechne aus der Eichkurve (6.3) die Chlorbutanolkonzentration, ausgedrückt in µg Chlorbutanol der Lösung 6.1 (a µg).

7.2. Der Chlorbutanolgehalt der Probe (% m/m) wird errechnet nach der Formel :

$$\%\ (m/m)\ \text{Chlorbutanol} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^6} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Chlorbutanolgehalt von 0,5 % (m/m) darf der Unterschied zwischen zwei an der gleichen Probe durchgeführten Bestimmungen 0,01 % nicht überschreiten.

Bemerkung

Wenn das Ergebnis gleich oder höher ist als die erlaubte Höchstkonzentration, muß das Fehlen von Interferenzen geprüft werden.

(1) Nach der Norm ISO 5725.

Anlage 26

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON CHININ

A. NACHWEIS

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zum Nachweis von Chinin in Shampoos und Haarlotionen.

2. PRINZIP

Die Identifizierung erfolgt durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel und durch Nachweis der intensiven Blaufluoreszenz des Chinins in saurem Milieu beim Betrachten im UV-Licht bei 360 nm.

Zur Bestätigung kann diese Fluoreszenz nachträglich mit Bromdämpfen beseitigt und mit Ammoniakdämpfen eine gelbliche Fluoreszenz hervorgerufen werden.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Kieselgelplatten ohne Fluoreszenzindikator, Schichtdicke 0,25 mm, 20 cm × 20 cm

3.2. Fließmittelgemisch : Toluol — Diethylether — Dichlormethan — Diethylamin : 20 — 20 — 20 — 8 (v/v/v/v/)

3.3. Methanol

3.4. Schwefelsäure 96 % ; $d_4^{20} = 1{,}84$

3.5. Diethylether

3.6. Sprühreagenz : 5 ml Schwefelsäure (3.4) vorsichtig zu 95 ml Diethylether (3.5) in einem gekühlten Gefäß hinzufügen.

3.7. Brom

3.8. Ammoniaklösung 28 %, $d_4^{20} = 0{,}90$

3.9. Chinin, wasserfrei

3.10. Standardlösung : etwa 100 mg Chinin (3.9) genau einwägen und mit Methanol (3.3) in einem Meßkolben auf 100 ml auffüllen.

4. GERÄTE

4.1. Übliche Einrichtung für Dünnschichtchromatographie

4.2. Ultraschallbad

4.3. Millipore-Filter FH 0,5 µm oder gleichwertiges mit geeignetem Filtriergerät

5. VERFAHREN

5.1. **Probenvorbereitung**

Eine ausreichende Menge der Probe, die etwa 100 mg Chinin enthält, in einen 100-ml-Meßkolben genau einwägen und mit Methanol (3.3) auffüllen.

Den Meßkolben verschließen und eine Stunde lang bei Zimmertemperatur im Ultraschallbad (4.2) lassen. Durch ein Filter (4.3) filtrieren und Filtrat für die Chromatographie benutzen.

5.2. **Dünnschichtchromatographie**

1 µl Standardlösung (3.10) und 1 µl Probelösung (5.1) auf eine Kieselgelplatte (3.1) auftragen. Die Platte in einem zuvor mit dem Fließmittelgemisch (3.2) gesättigten Gefäß 15 cm entwickeln lassen.

5.3. **Nachweis**

5.3.1. Platte bei Zimmertemperatur trocknen.

5.3.2. Mit Reagenz 3.6 sprühen.

5.3.3. Platte eine Stunde lang bei Zimmertemperatur trocknen lassen.

5.3.4. Platte unter einer UV-Lampe bei λ = 360 nm betrachten.

Chinin erscheint als intensiv fluoreszierender blauer Fleck

Die RF-Werte der wichtigsten Chinaalkaloide, die mit dem Fließmittelsystem 3.2 entwickelt wurden, sind als Beispiel in Tabelle I angegeben :

TABELLE I

Alkaloid	Rf
Chinin	0,20
Chinidin	0,29
Cinchonin	0,33
Cinchonidin	0,27
Hydrochinidin	0,17

5.3.5. Zur weiteren Bestätigung des Vorhandenseins von Chinin wird die Platte etwa eine Stunde lang Bromdämpfen (3.7) ausgesetzt : die Fluoreszenz verschwindet. Wird die gleiche Platte Ammoniakdämpfen (3.8) ausgesetzt, so treten die Flecke mit Braunfärbung wieder auf ; bei erneuter Betrachtung unter UV-Licht (360 nm) ist eine gelbliche Fluoreszenz festzustellen.

Nachweisgrenze : 0,1 µg Chinin

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zur Bestimmung des Chinin und ist geeignet, bis zu 0,5 % (m/m) in Shampoos und 0,2 % (m/m) in Haarlotionen zu bestimmen.

2. DEFINITION

Der mit diesem Verfahren bestimmte Chiningehalt wird in Massenprozent (% m/m) des Erzeugnisses ausgedrückt.

3. PRINZIP

Nach geeigneter Vorbehandlung des zu untersuchenden Produktes wird die Bestimmung mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPCL) durchgeführt.

4. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein bzw. für HPLC geeignet sein.

4.1. Acetonitril

4.2. Kaliumdihydrogenorthophosphat KH_2PO_4

4.3. Orthophosphorsäure 85 % ; $d\frac{20}{4} = 1{,}70$

4.4. Tetramethylammoniumbromid

4.5. Chinin, wasserfrei

4.6. Methanol

4.7. Orthophosphorsäurelösung, 0,1 M : 11,53 g Orthophosphorsäure (4.3) in einem Meßkolben mit Wasser auf 1 000 ml auffüllen.

4.8. Kaliumdihydrogenorthophosphatlösung, 0,1 M : 13,6 g Kaliumdihydrogenorthophosphat (4.2) in einem Meßkolben mit Wasser auf 1 000 ml auffüllen.

4.9. Tetramethylammoniumbromidlösung, 0,1 M : 15,40 g Tetramethylammoniumbromid (4.4) in einem Meßkolben mit Wasser auf 1 000 ml auffüllen.

4.10. Fließmittel : Orthophosphorsäurelösung (4.7) — Kaliumdihydrogenorthophosphatlösung (4.8) — Tetramethylammoniumbromidlösung (4.9) — Wasser — Acetonitril (4.1) : 10 — 50 — 100 — 340 — 90 (v/v/v/v/v)

Die Zusammensetzung dieses Fließmittels kann verändert werden, um einen Auflösungsfaktor $R \geq 1{,}5$ zu erhalten.

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

R_1 und R_2 = Retentionszeiten von zwei Peaks in min
W_1 und W_2 = Breite derselben Peaks bei halber Höhe in mm
d' = Papiervorschub in mm/min

4.11. Octadecylsilan, chemisch gebunden an Kieselgel, 10 µm

4.12. Standardlösungen : In eine Reihe von 100 ml Meßkolben etwa 5,0 ; 10,0 ; 15,0 bzw. 20,0 mg wasserfreies Chinin (4.5) genau einwägen. Mit Methanol (4.6) auffüllen und bis zur Auflösung des Chinins umrühren. Jede Lösung durch ein 0,5 µm Filter (5.5) filtrieren.

5. GERÄTE

5.1. Übliches Laborgerät

5.2. Ultraschallbad

5.3. Flüssigchromatograph mit UV-Detektor mit variabler Wellenlänge

5.4. Edelstahlsäule
Länge : 25 cm
Innendurchmesser : 4,6 mm
Säulenfüllung : Octadecylsilan (4.11)

5.5. Millipore-Filter, FH 0,5 µm oder gleichwertiges mit geeignetem Filtriergerät

6. VERFAHREN

6.1. **Probenvorbereitung**

In einen 100-ml-Meßkolben eine Probenmenge, die etwa 10 mg wasserfreies Chinin enthält, genau einwägen. Mit etwa 20 ml Methanol (4.6) versetzen und den Kolben 20 Minuten lang in das Ultraschallbad (5.2) stellen. Mit Methanol (4.6) zum Volumen auffüllen. Einen aliquoten Teil durch ein Filter (5.5) filtrieren.

6.2. **Chromatographiebedingungen**

Durchfluß der mobilen Phase (4.10): 1,0 ml/min
Detektionswellenlänge (5.3): 332 nm
eingespritzte Menge: 10 µl Lösung (6.1) — Messung der Peakfläche

6.3. **Eichgerade**

Mindestens dreimal 10 µl von jeder der Standardlösungen (4.12) einspritzen, die Peakflächen messen und bei jeder Konzentration die Mittelwerte berechnen. Eichgerade zeichnen.

7. BERECHNUNG

7.1. Anhand der Eichgeraden (6.3) mit Hilfe der Peakfläche die Menge wasserfreies Chinin — ausgedrückt in µg — in dem eingespritzten Volumen (6.2) bestimmen.

7.2. Den Gehalt an wasserfreiem Chinin in Massenprozent der untersuchten Probe nach folgender Formel berechnen:

$$\% \text{ (m/m) wasserfreies Chinin} = \frac{B}{A}$$

dabei ist

B = Menge wasserfreies Chinin in µg in 10 µl Filtrat (6.1)
A = Masse der Probe (6.1) in g

8. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Gehalt von 0,5 % (m/m) an wasserfreiem Chinin darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Messungen, die parallel an derselben Probe vorgenommen wurden, 0,02 % nicht überschreiten.

Bei einem Gehalt von 0,2 % (m/m) an wasserfreiem Chinin darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Messungen, die parallel an derselben Probe vorgenommen wurden, 0,01 % nicht überschreiten.

Anlage 27

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON ANORGANISCHEN SULFITEN UND BISULFITEN

ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt den Nachweis und die Bestimmung von anorganischen Sulfiten und Bisulfiten in kosmetischen Erzeugnissen. Sie ist nur anwendbar auf Produkte, die eine wässrige oder alkoholische Phase enthalten und für Gehalte bis zu 0,2 % Schwefeldioxid.

A. NACHWEIS

1. PRINZIP

Die Probe wird in Salzsäure erhitzt und das freigesetzte Schwefeldioxid entweder durch seinen Geruch oder durch Indikatorpapier nachgewiesen.

2. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

2.1. Salzsäure, 4 M

2.2. Kaliumjodatstärkepapier oder ein anderes geeignetes Indikatorpapier

3. GERÄTE

3.1. Übliches Laborgerät

3.2. 25-ml-Kolben mit kurzem Rückflußkühler

4. VERFAHREN

4.1. Etwa 2,5 g der Probe und 10 ml Salzsäure (2.1) werden in den Kolben (3.2) gegeben.

4.2. Mischen und bis zum Sieden erhitzen.

4.3. Die Entwicklung von Schwefeldioxid wird entweder durch Geruch oder mit Indikatorpapier (2.2) nachgewiesen.

(1) Nach der Norm ISO 5725.

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Sulfit- oder Bisulfitgehalt der Probe wird in Masseprozent Schwefeldioxid angegeben.

2. PRINZIP

Nach Ansäuern der Probe wird das freigesetzte Schwefeldioxid in eine Wasserstoffperoxidlösung überdestilliert. Die gebildete Schwefelsäure wird mittels einer Natriumhydroxid-Standardlösung titriert.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Wasserstoffperoxid 0,2 % (m/v). Täglich frisch zuzubereiten.

3.2. Orthophosphorsäure ($d_4^{25} = 1{,}75$)

3.3. Methanol

3.4. Natriumhydroxid-Standardlösung, 0,01 M

3.5. Stickstoff

3.6. Indikator: Mischung 1 : 1 (v/v) von Methylrot (0,03 % m/v in Ethanol) und Methylenblau (0,05 % m/v in Ethanol). Lösung filtrieren.

4. GERÄTE

4.1. Übliches Laborgerät

4.2. Destillationsapparatur (siehe Abbildung)

5. VERFAHREN

5.1. Wäge etwa 2,5 g der Probe in den Destillationskolben A (siehe Abbildung) genau ein.

5.2. Füge 60 ml Wasser und 50 ml Methanol (3.3) hinzu und mische.

5.3. Gib 10 ml der Wasserstoffperoxidlösung (3.1), 60 ml Wasser und einige Tropfen des Indikators (3.6) in die Destillationsvorlage D (siehe Abb.). Füge einige Tropfen der Natriumhydroxidlösung (3.4) hinzu, bis der Indikator nach grün umschlägt.

5.4. Der Vorgang 5.3 wird für die Waschflasche E (siehe Abbildung) wiederholt.

5.5. Setze die Apparatur zusammen und stelle den Stickstoffstrom (3.5) auf etwa 60 Blasen pro Minute ein.

5.6. Laß 15 ml Orthophosphorsäure (3.2) durch den Tropftrichter in den Destillationskolben A einlaufen.

5.7. Rasch bis zum Kochen erhitzen und 30 Minuten vorsichtig weitersieden lassen.

5.8. Entferne die Destillationsvorlage D. Spüle das Rohr und titriere dann das Destillat mit Natriumhydroxidlösung (3.4), bis der Indikator (3.6) nach grün umschlägt.

6. BERECHNUNG

Berechne den Gehalt der Probe an Sulfit bzw. Bisulfit in Masseprozent nach der Formel:

$$\% \text{ m/m Schwefeldioxid} = \frac{3{,}2\ MV}{m}$$

M = molare Konzentration der Natriumhydroxidlösung (3.4)

V = für die Titration (5.8) erforderliches Volumen der Natriumhydroxidlösung (3.4) in ml

m = Masse der Probe (5.1) in gr.

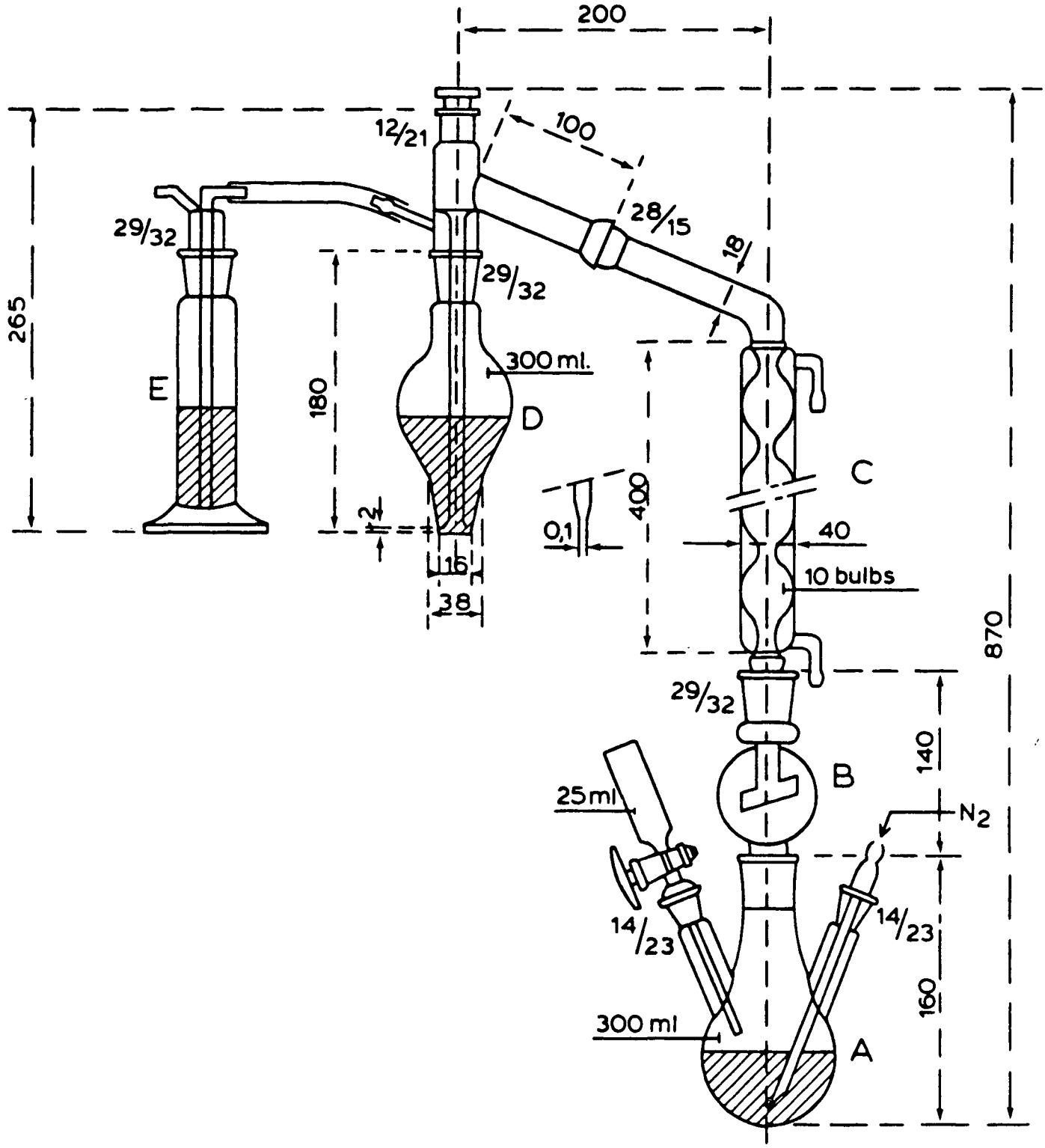
7. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Schwefeldioxidgehalt von 0,2 % m/m darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier parallel an der gleichen Probe durchgeführten Bestimmungen 0,006 % nicht überschreiten.

(1) Nach der Norm ISO 5725.

Schwefeldioxid-Destillationsapparatur nach TANNER

Alle Angaben in mm



Anlage 28

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON ALKALICHLORATEN

ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode beschreibt den Nachweis und die Bestimmung von Chloraten in Zahnpasten und anderen kosmetischen Produkten.

A. NACHWEIS

1. PRINZIP

Chlorat wird von anderen Halogenaten durch Dünnschichtchromatographie getrennt und durch Oxidation von Kaliumjodid zu Jod nachgewiesen.

2. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

2.1. Referenzlösungen : Wässrige Lösungen von Kalium-Chlorat-Bromat und -Jodat, 0,2 % (m/v), frisch zubereitet.

2.2. Fließmittel : Ammoniaklösung 28 % (m/v) — Aceton — Butanol : 60 — 130 — 30 (v/v/v)

2.3. Wässrige Kaliumjodidlösung, 5 % (m/v)

2.4. Stärkelösung, 1-5 % (m/v)

2.5. Salzsäure, 1 M

2.6. DC-Fertigplatten Cellulose, Schichtdicke 0,25 mm

3. GERÄTE

Übliche Einrichtung für Dünnschichtchromatographie.

4. VERFAHREN

4.1. Etwa 1 g der Probe wird mit Wasser extrahiert, filtriert und auf etwa 25 ml verdünnt.

4.2. 2 µl dieser Lösung (4.1) und jeweils 2 µl jeder der drei Referenzlösungen (2.1) werden auf die Grundlinie einer DC-Platte (2.6) aufgetragen.

4.3. Die DC-Platte in ein Entwicklungsgefäß stellen und mit aufsteigender Chromatographie mit dem Fließmittel (2.2) bis zu etwa drei Viertel der Länge der Platte entwickeln.

4.4. Die Platte aus dem Entwicklungsgefäß entfernen und das Fließmittel verdampfen lassen.

Dauer : bis zu 2 Stunden.

4.5. Die Platte mit Kaliumjodidlösung (2.3) besprühen und etwa 5 Minuten lang trocknen lassen.

4.6. Die Platte mit Stärkelösung (2.4) besprühen und wieder etwa 5 Minuten lang trocknen lassen.

4.7. Die Platte mit Salzsäure (2.5) besprühen.

5. AUSWERTUNG

Ist Chlorat anwesend, so erscheint nach etwa einer halben Stunde ein blauer (eventuell auch brauner) Fleck mit einem Rf-Wert von ca. 0,7 — 0,8. Bromat und Jodat reagieren sofort.

Halogenat	Rf
Chlorat	0,7 — 0,8
Bromat	0,5 — 0,6
Jodat	0 — 0,2

Es ist darauf zu achten, daß die Bromat- und Jodatflecken nicht verwechselt werden.

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. DEFINITION

Der nach dieser Methode bestimmte Chloratgehalt der Probe wird in Massenprozent (% m/m) Chlorat ausgedrückt.

2. PRINZIP

Chlorat wird mit Zinkpulver in saurem Milieu reduziert. Das entstandene Chlorid wird mit Silbernitrat potentiometrisch titriert. Eine analoge Titration vor der Reduktion weist auf die mögliche Anwesenheit von Halogeniden hin.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Essigsäure, 80 % (m/m)

3.2. Zinkpulver

3.3. Silbernitratlösung, 0,1 M

4. GERÄTE

4.1. Übliches Laborgerät

4.2. Potentiograph mit Silberindikatorelektrode

5. VERFAHREN

5.1. **Vorbereitung der Probe**

Eine Probenmenge m von etwa 2 g wird in ein Zentrifugenglas genau eingewogen. Etwa 15 ml Essigsäure (3.1) hinzugeben und sorgfältig mischen. 30 Minuten reagieren lassen und 15 Minuten lang bei 2 000 U/min zentrifugieren.

Die überstehende Flüssigkeit in einen 50-ml-Meßkolben abgießen und das Zentrifugieren zweimal unter Zugabe von jeweils 15 ml Essigsäure (3.1) zu dem Rückstand wiederholen.

Die Lösungen in dem 50-ml-Meßkolben vereinen und mit Essigsäure (3.1) zum Volumen auffüllen.

5.2. **Reduktion von Chlorat**

20 ml der Lösung 5.1 in einen Rundkolben geben, 0,6 g Zinkpulver (3.2) hinzufügen und am Rückflußkühler zum Sieden bringen. 30 Minuten sieden lassen, abkühlen lassen und das überschüssige Zink abfiltrieren. Den Kolben mit Wasser spülen und damit das Filter nachwaschen. Filtrat und Waschwasser vereinen.

5.3. **Bestimmung von Chlorid**

Die Lösung 5.2 wird mit Silbernitratlösung (3.3) unter Verwendung des Potentiographen (4.2) titriert. 20 ml der Lösung 5.1 werden ebenfalls mit Silbernitratlösung (3.3) titriert. Enthält das Erzeugnis Brom- oder Jod-Derivate, die nach Reduktion Bromide oder Jodide freisetzen, so weist die Titrationskurve mehrere Wendepunkte auf. In diesem Fall ist das Volumen an Silbernitratlösung (3.3), das dem Chlorid entspricht, gleich der Volumendifferenz zwischen dem letzten und vorletzten Wendepunkt.

6. BERECHNUNG

Der Chloratgehalt der Probe wird nach der Formel

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

berechnet.

V = Volumen der Silbernitratlösung (3.3) in ml, das zur Titration der Lösung 5.2 verbraucht wurde.

V' = Volumen der Silbernitratlösung (3.3) in ml, das zur Titration der Lösung 5.1 verbraucht wurde

M = Molarität der verwendeten Silbernitratlösung (3.3)

m = Masse der Probe in g

7. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Chloratgehalt von 3 bis 5 % darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier parallel an der gleichen Probe durchgeführten Bestimmungen 0,07 Massenprozent nicht überschreiten.

(1) Nach der Norm ISO 5725.

Anlage 29

NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON NATRIUMJODAT

ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode beschreibt die Identifizierung und quantitative Bestimmung Natriumjodat in kosmetischen Mitteln, die nach Gebrauch sofort ausgespült werden.

A. IDENTIFIZIERUNG

1. PRINZIP

Natriumjodat wird von anderen Halogenaten durch Dünnschichtchromatographie getrennt und durch Oxidation von Jodid zu Jod nachgewiesen.

2. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

2.1. Referenzlösungen : Wässrige Lösungen von Kalium-Chlorat, -Bromat und -Jodat, 0,01 % (m/v), frisch zubereitet.

2.2. Fließmittel : Ammoniaklösung 28 % (m/v) — Aceton — Butanol : 60 — 130 — 30 (v/v/v)

2.3. Wässrige Kaliumjodidlösung, 5 % (m/v)

2.4. Stärkelösung, 1-5 % (m/v)

2.5. Salzsäure, 1 M

3. GERÄTE

3.1. DC-Fertigplatten Cellulose, Schichtdicke 0,25 mm

3.2. Übliche Ausstattung für Dünnschichtchromatographie

4. VERFAHREN

4.1. Etwa 1 g der Probe wird mit Wasser extrahiert, filtriert und auf etwa 10 ml verdünnt.

4.2. 2 µl dieser Lösung (4.1) und jeweils 2 µl jeder der drei Referenzlösungen (2.1) werden auf die Grundlinie einer DC-Platte (3.1) aufgetragen.

4.3. Die DC-Platte in ein Entwicklungsgefäß stellen und mit aufsteigender Chromatographie mit dem Fließmittel (2.2) bis zu etwa drei Viertel der Länge der Platte entwickeln.

4.4. Die Platte aus dem Entwicklungsgefäß entfernen und das Fließmittel bei Zimmertemperatur verdampfen lassen. Dauer : bis zu 2 Stunden.

4.5. Die Platte mit Kaliumjodidlösung (2.3) besprühen und etwa 5 Minuten lang trocknen lassen

4.6. Die Platte mit Stärkelösung (2.4) besprühen und wieder etwa 5 Minuten lang trocknen lassen

4.7. Abschließend die Platte mit Salzsäure (2.5) besprühen

5. AUSWERTUNG

Ist Jodat anwesend, so erscheint unmittelbar ein brauner (eventuell auch blauer) Fleck mit einem Rf-Wert von ca. 0-0,2. Bromate werden ebenfalls sofort sichtbar bei einem Rf-Wert von ca. 0,5-0,6 ; Chlorate nach etwa 30 Minuten bei einem Rf-Wert von ca. 0,7-0,8.

B. QUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. DEFINITION

Der Gemäß dieser Methode bestimmte Natriumjodatgehalt der Probe wird in Masseprozent Natriumjodat angegeben.

2. PRINZIP

Natriumjodat wird in Wasser gelöst und durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie unter Verwendung von zwei hintereinander geschalteten Säulen — eine reverse phase C 18-Säule und eine Anionenaustauschsäule — bestimmt.

3. REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen analysenrein und für die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie geeignet sein.

3.1. Salzsäure, 4 M

3.2. Wässrige Natriumsulfitlösung, 5 % m/v

3.3. Natriumjodat-Stammlösung: 50 mg Natriumjodat/100 ml Wasser

3.4. Kaliumdihydrogenorthophosphat

3.5. Dinatriumhydrogenorthophosphat · $2H_2O$

3.6. Mobile Phase für die HPLC: Löse 3,88 g Kaliumhydrogenorthophosphat (3.4) und 1,19 g Dinatriumhydrogenorthophosphat ·2 H_2O (3.5) in einem Liter Wasser. Der pH dieser Lösung beträgt 6.2.

3.7. Universalindikatorpapier, pH 1-11

4. GERÄTE

Übliches Laborgerät

4.1. Papierfilter, 110 mm Durchmesser, Schleicher und Schüll Nr. 575 oder gleichwertiges

4.2. Hochdruckflüssigkeitschromatograph mit UV-Detektor mit variabler Wellenlänge

4.3. Säulen: 2 hintereinandergeschaltete Säulen von jeweils 120 mm Länge und 4,6 mm Innendurchmesser.

Säulenfüllung: 1. Säule: Nucleosil® 5 C 18 oder gleichwertiges
2. Säule: Vydac™-301-SB oder gleichwertiges

5. VERFAHREN

5.1. **Probenvorbereitung**

5.1.1. *Flüssige Proben (Shampoos)*

Wäge eine Probemenge von etwa 1 g einen 10 ml Meßkolben genau ein.

Fülle mit Wasser zur Marke auf und mische.

Falls erforderlich, filtriere die Lösung.

Bestimme das Jodat in der Lösung mittels HPLC wie in Absatz 5.2 beschrieben.

5.1.2. *Feste Proben (Seifen)*

Wäge eine zuvor fein zerkleinerte Probemenge von etwa 1 g in einen 100-ml-Meßzylinder mit Glasstopfen genau ein. Fülle mit Wasser bis 50 ml auf und schüttele 1 Minute lang kräftig.

Zentrifugiere und filtriere durch ein Papierfilter (4.1) oder lasse die Mischung mindestens eine Nacht stehen, schüttele die gallertartige Lösung kräftig und filtriere sie durch ein Papierfilter (4.2). Bestimme das Jodat im Filtrat mittels HPLC wie in Absatz 5.2 beschrieben.

5.2. **Chromatographie**

Flowrate: 1 ml/min
Detektionswellenlänge: 210 nm
Einspritzvolumen: 10 µl
Messung: Peakfläche

5.3. **Eichgerade**

Pipettiere 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 bzw. 20.0 ml der Natriumjodatstammlösung (3.3) in 50-ml-Meßkolben. Fülle mit Wasser zur Marke auf und mische. Die so erhaltenen Lösungen enthalten 0.01, 0.02, 0.05, 0.10 bzw. 0.20 mg Natriumjodat pro ml. Injiziere 10 µl von jeder Standard-Jodatlösung in den Flüssigkeitschromatographen (4.3). Bestimme die Peakflächen für Jodat und zeichne die Eichgerade: Peakfläche — Natriumjodatkonzentration.

6. BERECHNUNG

Berechne die Natriumjodatkonzentration in Masseprozent (% m/m) nach folgender Formel:

$$\%\text{m/m Natriumjodat} = \frac{Vc}{10\ m}$$

dabei ist:

m = Masse der Probe (5.1) in g

V = Gesamtvolumen der nach 5.1 erhaltenen Probenlösung in ml

c = aus Eichkurve (5.3) entnommene Natriumjodatkonzentration in mg/ml

7. WIEDERHOLBARKEIT (1)

Bei einem Natriumjodatgehalt von 0,1 % (m/m) darf die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Parallelbestimmungen, die an der gleichen Probe vorgenommen wurden, 0,002 % nicht überschreiten.

8. BESTÄTIGUNG

8.1. **Prinzip**

In einer angesäuerten Lösung des kosmetischen Produktes wird das Jodat (JO_3^-) durch Sulfit zu Jodid (J^-) reduziert und die erhaltene Lösung mittels HPLC untersucht. Verschwindet nach der Behandlung mit Sulfit ein mit seiner Retentionszeit dem Jodat entsprechender Peak, so kann der ursprüngliche Peak mit größter Wahrscheinlichkeit Jodat zugeschrieben werden.

8.2. **Verfahren**

Pipettiere 5 ml der nach 5.1 gewonnenen Probelösung in einen Erlenmeyer.

Stelle den pH der Lösung mit Salzsäure (3.1) unter Verwendung von Universalindikatorpapier (3.7) auf einen Wert von 3 oder niedriger ein.

Füge 3 Tropfen Natriumsulfitlösung (3.2) hinzu und mische. Injiziere 10 µl dieser Lösung in den Flüssigkeitschromatographen (4.2).

Vergleiche dieses Chromatogramm mit demjenigen, das bei der gleichen Probe nach Abschnitt 5 erhalten wurden.

---

(1) Nach der Norm ISO 5725.

Anlage 30

NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON SILBERNITRAT IN KOSMETISCHEN MITTELN

A. Nachweis

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zum Nachweis von Silbernitrat in wäßrigen kosmetischen Mitteln.

2. *Kurzbeschreibung*

Silber wird durch den mit Chloridionen gebildeten charakteristischen weißen Niederschlag nachgewiesen.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salzsäure, 2 M.

3.2. Ammoniaklösung: konzentrierte Ammoniaklösung (d_{20} = 0,88 g/ml) wird mit der gleichen Menge Wasser gemischt.

3.3. Salpetersäure, 2 M.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Zentrifuge.

5. *Durchführung*

5.1. In einem Zentrifugenglas wird zu ungefähr 1 g Probe tropfenweise Salzsäure (3.1) gegeben, bis die Ausfällung abgeschlossen ist. Die Mischung wird anschließend zentrifugiert.

5.2. Die überstehende Flüssigkeit wird dekantiert und der Rückstand einmal mit fünf Tropfen kaltem Wasser gewaschen. Die Waschflüssigkeit wird verworfen.

5.3. Der Rückstand im Zentrifugenglas wird mit der gleichen Menge Wasser versetzt und unter Rühren zum Sieden erhitzt.

5.4. Die Mischung wird heiß zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit verworfen.

5.5. Der Niederschlag wird mit einigen Tropfen Ammoniaklösung (3.2) versetzt, gemischt und anschließend zentrifugiert.

5.6. Ein Tropfen der überstehenden Lösung wird auf einen Objektträger gebracht und mit wenigen Tropfen Salpetersäure (3.3) versetzt.

5.7. Ein weißer Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Silber an.

B. Bestimmung

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von Silbernitrat als Silber in kosmetischen Mitteln zum Färben von Wimpern und Augenbrauen.

2. *Kurzbeschreibung*

Silber wird im Erzeugnis durch Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salpetersäure, 0,02 M.

3.2. Silber-Standardlösungen.

3.2.1. Silber-Standardstammlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salpetersäure („SpectrosoL" oder gleichwertiges).

3.2.2. Silber-Standardlösung, 100 µg/ml :
10,0 ml der Silber-Standardstammlösung (3.2.1) werden in einen 100-ml-Meßkolben pipettiert und mit 0,02 M Salpetersäure (3.1) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt. Diese Standardlösung muß frisch hergestellt und in einer dunklen Flasche aufbewahrt werden.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Atomabsorptionsspektrophotometer mit Silber-Hohlkathodenlampe.

5. *Arbeitsvorschrift*

5.1. Vorbereitung der Probe

Ungefähr 0,1 g (m Gramm) einer homogenen Probe des Erzeugnisses wird genau abgewogen, quantitativ in einen 1-Liter-Meßkolben übergeführt und mit 0,02 M Salpetersäure (3.1) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektrometrie

Flamme : Luft-Acetylen,

Wellenlänge : 338,3,

Untergrundkorrektur : ja,

Brenngasbedingungen : brenngasarm ; für eine maximale Absorption ist eine Optimierung der Brennerhöhe und der Brenngasbedingungen erforderlich.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Silber-Standardlösung (3.2.2) werden 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 bzw. 5,0 ml in eine Reihe von 100-ml-**Meßkolben pipettiert und jeweils mit 0,02 M Salpetersäure (3.1) bis zur Marke aufgefüllt und** gemischt. Diese Lösungen enthalten 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 und 5,0 µg Silber je Milliliter.

5.3.2. Die Extinktion der 0,02 M Salpetersäure (3.1) wird gemessen und der erhaltene Extinktionswert als Blindwert der Silberkonzentration für die Eichkurve verwendet.

Die Extinktion jeder Silber-Eichlösung (5.3.1) wird gemessen und die Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Silberkonzentration in Form der Eichkurve aufgezeichnet.

5.4. Bestimmung

Die Extinktion der Prüflösung (5.1) wird gemessen und aus der Eichkurve die dem ermittelten Extinktionswert zugehörige Silberkonzentration abgelesen.

6. *Berechnung*

Der Silbernitratgehalt in Massenprozent (% m/m) der Probe wird nach folgender Formel berechnet :

$$\% \text{ (m/m) Silbernitrat} = \frac{1{,}5748 \times c}{10 \times m}$$

m = Einwaage der untersuchten Probe in Gramm (5.1),

c = aus der Eichkurve abgelesene Silberkonzentration der Prüflösung (5.1) in Mikrogramm je Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit*(1)

Bei einem Silbernitratgehalt von 4 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier an derselben Probe parallel durchgeführter Bestimmungen um nicht mehr als 0,05 % (m/m) voneinander abweichen.

Anlage 31

NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON SELENDISULFID IN ANTISCHUPPEN-SHAMPOOS

A. Nachweis

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zum Nachweis von Selendisulfid als Selen in Antischuppen-Shampoos.

2. *Kurzbeschreibung*

Selen wird durch die charakteristische gelbe bis orange Farbe nachgewiesen, die bei der Reaktion mit Harnstoff und Kaliumiodid entsteht.

(1) ISO 5725.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Konzentrierte Salpetersäure (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Harnstoff.

3.3. Kaliumiodid-Lösung, 10 % (m/v): 10 g Kaliumiodid werden in 100 ml Wasser gelöst.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Druckaufschlußbehälter, 100 ml.

4.3. Heizblock.

4.4. Filterpapier (Whatman Nr. 42 oder gleichwertiges) oder Membranfilter, 0,45 µm.

5. *Durchführung*

5.1. In einem Druckaufschlußbehälter (4.2) werden zu etwa 1 g Shampoo 2,5 ml konzentrierte Salpetersäure (3.1) gegeben und 30 Minuten lang bei 150 °C in einem Heizblock (4.3) aufgeschlossen.

5.2. Die digerierte Probe wird mit Wasser auf ein Volumen von 25 ml verdünnt und durch ein Papierfilter oder ein 0,45-µm-Membranfilter (4.4) filtriert.

5.3. 2,5 ml des Filtrats werden mit 5 ml Wasser und 2,5 g Harnstoff (3.2) versetzt und zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird 1 ml Kaliumiodid-Lösung (3.3) hinzugegeben.

5.4. Eine gelbe bis orange Farbe, die beim Stehen rasch nachdunkelt, zeigt das Vorhandensein von Selen an.

B. Bestimmung

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von Selendisulfid als Selen in Antischuppen-Shampoos, die bis zu 4,5 % (m/m) Selendisulfid enthalten.

2. *Kurzbeschreibung*

Die Probe wird mit Salpetersäure aufgeschlossen und das Selen mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Konzentrierte Salpetersäure (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Salpetersäure 5 % (v/v): Zu 500 ml Wasser werden in einem Becherglas unter ständigem Rühren 50 ml konzentrierte Salpetersäure (3.1) gegeben. Die Lösung wird in einen 1-Liter-Meßkolben übergeführt und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

3.3. Selen-Standardlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salpetersäure („SpectrosoL" oder gleichwertiges).

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Druckaufschlußbehälter, 100 ml.

4.3. Heizblock.

4.4 Filterpapier (Whatman Nr. 42 oder gleichwertiges) oder Membranfilter, 0,45 µm.

4.5. Atomabsorptionsspektrophotometer mit Selen-Hohlkathodenlampe.

5. *Durchführung*

5.1. Vorbereitung der Probe

5.1.1. **Ungefähr 0,2 g (m Gramm) einer homogenen Probe Shampoo werden in einen Druckaufschlußbehälter (4.2) genau eingewogen.**

5.1.2. Nach Zusatz von 5 ml konzentrierter Salpetersäure (3.1) wird die Mischung im Heizblock (4.3) bei 150 °C 1 Stunde lang aufgeschlossen.

5.1.3. Nach dem Abkühlen wird die Mischung mit Wasser zu 100 ml verdünnt und über ein Papierfilter oder ein 0,45-µm-Membranfilter (4.4) filtriert. Das Filtrat dient als Prüflösung.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektrometrie

Flamme : Luft-Acetylen,

Wellenlänge : 196,0 nm,

Untergrundkorrektur : ja,

Brenstoff : arm ; für maximale Absorption müssen Brennerhöhe und Brennstoff optimiert werden.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Selen-Standardlösung (3.3) werden 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 und 5,0 ml in einer Reihe von 100-ml-Meßkolben pipettiert und jeweils mit 5%iger (v/v) Salpetersäure (3.2) zur Marke aufgefüllt und gemischt. Diese Eichlösungen enthalten 10, 20, 30, 40 bzw. 50 µg Selen je Milliliter.

5.3.2. Die Extinktion der 5%igen (v/v) Salpetersäure (3.2) wird gemessen und der erhaltene Extinktionswert als Blindwert der Selenkonzentration für die Eichkurve verwendet.

Die Extinktion jeder Selen-Eichlösung (5.3.1) wird gemessen und die Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Selenkonzentration in Form der Eichkurve aufgezeichnet.

5.4. Bestimmung

Die Extinktion der Prüflösung (5.1.3) wird gemessen und aus der Eichkurve die dem ermittelten Extinktionswert zugehörige Selenkonzentration abgelesen.

6. *Berechnung*

Der Gehalt an Selendisulfid in Massenprozent (% m/m) der Probe wird nach folgender Formel berechnet :

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

m = Einwaage der untersuchten Probe (5.1.1) in Gramm,

c = aus der Eichkurve abgelesene Selenkonzentration der Prüflösung (5.1.3) in Mikrogramm je Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit* (1)

Bei einem Selendisulfid-Gehalt von 1 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier an derselben Probe parallel durchgeführter Bestimmungen um nicht mehr als 0,05 % (m/m) voneinander abweichen.

Anlage 32

BESTIMMUNG VON LÖSLICHEM BARIUM UND STRONTIUM IN FARBPIGMENTEN IN FORM VON SALZEN ODER LACKEN

A. Bestimmung von löslichem Barium

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zur Extraktion und Bestimmung von löslichem Barium aus Farbpigmenten in Form von Salzen oder Lacken.

2. *Kurzbeschreibung*

Das Farbpigment wird mit 0,07 M Salzsäure unter definierten Bedingungen extrahiert ; die Menge des löslichen Bariums im Extrakt wird danach durch Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

(1) ISO 5725.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Absolutes Ethanol.

3.2. Salzsäure, 0,07 M.

3.3. Salzsäure, 0,5 M.

3.4. Kaliumchloridlösung, 8 % (m/v): 16 g Kaliumchlorid werden in 200 ml 0,07 M Salzsäure (3.2) gelöst.

3.5. Barium-Standardlösungen

3.5.1. Barium-Standardstammlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salpetersäure („SpectrosoL" oder gleichwertiges).

3.5.2. Barium-Standardlösung, 200 µg/ml: 20,0 ml der Barium-Standardstammlösung (3.5.1) werden in einen 100-ml-Meßkolben pipettiert und mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. pH-Meter mit einer Genauigkeit von ± 0,02 Einheiten.

4.3. Schüttelmaschine.

4.4. Membranfilter, 0,45 µm.

4.5. Atomabsorptionsspektrophotometer mit Barium-Hohlkathodenlampe.

5. *Durchführung*

5.1. Vorbereitung der Probe

5.1.1. Ungefähr 0,5 g (m Gramm) Farbpigment werden genau in einen Erlenmeyerkolben eingewogen, dessen Fassungsvermögen mindestens 150 ml betragen sollte, um ein wirkungsvolles Schütteln zu gewährleisten.

5.1.2. Nach Zusatz von 1,0 ml Ethanol (3.1) mittels Pipette wird der Kolben vorsichtig geschwenkt, bis das Pigment vollständig durchtränkt ist. Aus einer Bürette wird genau so viel 0,07 M Salzsäure (3.2) zugesetzt, daß ein Verhältnis Volumen der Säure zu Masse des Pigments von genau 50 Milliliter je Gramm erhalten wird. Das gesamte Volumen des Extraktionsmittels einschließlich Ethanol beträgt dann V ml. Der Inhalt des Kolbens wird 5 Sekunden lang geschüttelt, um eine vollkommene Durchmischung zu gewährleisten.

5.1.3. Der pH-Wert der entstandenen Suspension wird mit dem pH-Meter (4.2) gemessen. Liegt der Wert über 1,5, wird tropfenweise 0,5 M Salzsäure (3.3) hinzugefügt, bis er in den Bereich von 1,4 bis 1,5 fällt.

5.1.4. Der Kolben wird verschlossen und anschließend sofort 60 Minuten lang in der Schüttelmaschine (4.3) geschüttelt, wobei eine ausreichend hohe Geschwindigkeit einzustellen ist, damit ein Schaum entsteht. Danach wird die Mischung durch ein 0,45-µm-Membranfilter (4.4) filtriert. Die Mischung darf vor der Filtration nicht zentrifugiert werden. 5,0 ml des Filtrats werden in einen 50-ml-Meßkolben pipettiert, mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

Diese Lösung wird auch für die Strontiumbestimmung benötigt (Teil B).

5.1.5. In einen 100-ml-Meßkolben werden 5,0 ml Kaliumchloridlösung (3.4) und ein aliquoter Teil (W_{Ba} ml) des verdünnten Filtrats (5.1.4) pipettiert, so daß die erwartete Konzentration zwischen 3 und 10 µg Barium je Milliliter liegt. (Ein aliquoter Teil von 10 ml ist ein guter Anfangswert). Die Lösung wird mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

5.1.6. Die atomabsorptionsspektrometrische Bestimmung des Bariumgehaltes der Prüflösung (5.1.5) ist am selben Tag durchzuführen.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektrometrie

Flamme: Distickstoffoxid-Acetylen,

Wellenlänge: 553,5 nm,

Untergrundkorrektur: keine,

Brennstoff: arm; für maximale Absorption müssen Brennerhöhe und Brennstoff optimiert werden.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Barium-Standardlösung (3.5.2) werden 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 und 5,0 ml in einer Reihe von 100-ml-Meßkolben pipettiert. Nach Zusatz von jeweils 5,0 ml Kaliumchloridlösung (3.4) mittels Pipette wird mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

Diese Eichlösungen enthalten 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 bzw. 10,0 µg Barium je Milliliter.

Entsprechend wird eine Blindlösung ohne Zugabe der Barium-Standardlösung hergestellt.

5.3.2. Die Extinktion der Blindlösung (5.3.1) wird gemessen und der erhaltene Extinktionswert als Blindwert der Bariumkonzentration für die Eichkurve verwendet.

Die Extinktion jeder Barium-Eichlösung (5.3.1) wird gemessen und die Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Bariumkonzentration in Form der Eichkurve aufgezeichnet oder es wird die Regressionsgerade berechnet.

5.4. Bestimmung

Die Extinktion der Prüflösung (5.1.5) wird gemessen und aus der Eichkurve die dem ermittelten Extinktionswert zugehörige Bariumkonzentration abgelesen bzw. aus der Gleichung für die Regressionsgerade berechnet.

6. *Berechnung*

Der Gehalt an löslichem Barium in Massenprozent (% m/m) des Pigments wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ (m/m) lösliches Barium} = \frac{c \times V}{10\, W_{Ba} \times m}$$

m = Einwaage der untersuchten Probe (5.1.1) in Gramm,

c = aus der Eichkurve abgelesene Bariumkonzentration der Prüflösung (5.1.5) in Mikrogramm je Milliliter bzw. der aus der Gleichung für die Regressionsgerade berechnete Wert,

V = Gesamtvolumen des Extraktionsmittels (5.1.2) in Milliliter,

W_{Ba} = aliquoter Teil des Extrakts aus 5.1.5 in Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit*

Die beste vorliegende Schätzung für die Wiederholbarkeit (ISO 5725) dieser Methode für einen Gehalt an löslichem Barium von 2 % (m/m) beträgt 0,3 % (m/m).

8. *Bemerkungen*

8.1. Unter bestimmten Bedingungen kann bei Anwesenheit von Calcium die Barium-Absorption erhöht werden. Dies kann durch Zusatz von Magnesium-Ionen in einer Konzentration von 5 g/l verhindert werden (1).

8.2. Die Anwendung der ICP-Atomemissionsspektrometrie ist als Alternativmethode zur Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie zugelassen.

B. Bestimmung von löslichem Strontium

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zur Extraktion und Bestimmung von löslichem Strontium aus Farbpigmenten in Form von Salzen oder Lacken.

2. *Kurzbeschreibung*

Das Farbpigment wird mit 0,07 M Salzsäure unter definierten Bedingungen extrahiert; die Menge des löslichen Strontiums im Extrakt wird danach durch Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Absolutes Ethanol.

3.2. Salzsäure, 0,07 M.

3.3. Kaliumchloridlösung, 8 % (m/v): 16 g Kaliumchlorid werden in 200 ml 0,07 M Salzsäure (3.2) gelöst.

(1) Jerrow, M. et a.: Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry. Analytical Proceedings 28, 40 (1991).

3.4. Strontium-Standardlösungen

3.4.1. Strontium-Standardstammlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salpetersäure („SpectrosoL" oder gleichwertiges).

3.4.2. Strontium-Standardlösung, 100 µg/ml:

10,0 ml der Strontium-Standardstammlösung (3.4.1) werden in einen 100-ml-Meßkolben pipettiert und mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Membranfilter, 0,45 µm.

4.3. Atomabsorptionsspektrophotometer mit Strontium-Hohlkathodenlampe.

5. *Durchführung*

5.1. Vorbereitung der Probe

Zur Bestimmung des Strontiumgehaltes wird die im Teil A Abschnitt 5.1.4 hergestellte Lösung verwendet.

5.1.1. In einen 100-ml-Meßkolben werden 5,0 ml Kaliumchloridlösung (3.3) und ein aliquoter Teil (W_{Sr} ml) des verdünnten Filtrates (A. 5.1.4) pipettiert, so daß die erwartete Konzentration zwischen 2 und 5 µg Strontium je Milliliter liegt. (Ein aliquoter Teil von 25 ml ist ein guter Anfangswert). Die Lösung wird mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

5.1.2. Die atomabsorptionsspektrometrische Bestimmung des Strontiumgehaltes der Prüflösung (5.1.1) ist am selben Tag durchzuführen.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektrometrie

Flamme: Distickstoffoxid-Acetylen,

Wellenlänge: 460,7 nm,

Untergrundkorrektur: keine,

Brennstoff: arm; für maximale Absorption müssen Brennerhöhe und Brennstoff optimiert werden.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Strontium-Standardlösung (3.4.2) werden 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 und 5,0 ml in eine Reihe von 100-ml-Meßkolben pipettiert. Nach Zusatz von jeweils 5,0 ml Kaliumchloridlösung (3.3) mittels Pipette wird mit 0,07 M Salzsäure (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

Die Eichlösungen enthalten 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 bzw. 5,0 µg Strontium je Milliliter.

Entsprechend wird eine Blindlösung ohne Zugabe der Strontium-Standardlösung hergestellt.

5.3.2. Die Extinktion der Blindlösung (5.3.1) wird gemessen und der erhaltene Extinktionswert als Blindwert der Strontiumkonzentration für die Eichkurve verwendet. Die Extinktion jeder Strontium-Eichlösung (5.3.1) wird gemessen und die Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Strontiumkonzentration in Form der Eichkurve aufgezeichnet.

5.4. Bestimmung

Die Extinktion der Prüflösung (5.1.1) wird gemessen und aus der Eichkurve die dem ermittelten Extinktionswert zugehörige Strontiumkonzentration abgelesen.

6. *Berechnung*

Der Gehalt an löslichem Strontium in Massenprozent (% m/m) des Pigments wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ (m/m) lösliches Strontium} = \frac{c \times V}{10\, W_{Sr} \times m}$$

m = Einwaage der untersuchten Probe (A. 5.1.1) in Gramm,

c = aus der Eichkurve abgelesene Strontiumkonzentration der Prüflösung (5.1.1) in Mikrogramm je Milliliter,

V = Gesamtvolumen des Extraktionsmittel (A. 5.1.2) in Milliliter,

W_{Sr} = aliquoter Teil des Extrakts aus 5.1.1 in Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit*

Die beste vorliegende Schätzung für die Wiederholbarkeit (ISO 5725) dieser Methode für einen Gehalt an löslichem Strontium von 0,6 % (m/m) beträgt 0,09 % (m/m).

8. *Bemerkungen*

Die Anwendung der ICP-Atomemissionsspektrometrie ist als Alternativmethode zur Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie zugelassen.

Anlage 33

NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON BENZYLALKOHOL IN KOSMETISCHEN MITTELN

A. Nachweis

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zum Nachweis von Benzylalkohol in kosmetischen Mitteln.

2. *Kurzbeschreibung*

Die Identifizierung erfolgt durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzen müssen analysenrein sein.

3.1. Benzylalkohol.

3.2. Chloroform.

3.3. Absolutes Ethanol.

3.4. n-Pentan.

3.5. Fließmittel: Diethylether.

3.6. Benzylalkohol-Standardlösung: 0,1 g Benzylalkohol (3.1) wird in einen 100-ml-Meßkolben eingewogen, mit Ethanol (3.3) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

3.7. **DC-Fertigplatten (Glas, 200 mm × 200 mm oder 100 mm × 200 mm).**

Adsorbensschicht: Kieselgel 60 F_{254}.

Schichtdicke: 0,25 mm.

3.8. Sprühreagenz: 12-Molybdatophosphorsäure, 10 % (m/v) in Ethanol (3.3).

4. *Geräte:*

4.1. Übliche Ausrüstung zur Dünnschichtchromatographie.

4.2. Doppeltrogkammer, Gesamtmaße ungefähr 80 × 230 × 240 mm.

4.3. Chromatographiepapier: Whatman oder gleichwertiges.

4.4. UV-Lampe, Wellenlänge 254 nm.

5. *Durchführung*

5.1. Vorbereitung der Probe

1,0 g der zu untersuchenden Probe wird in einen 10-ml-Meßkolben eingewogen. Nach Zusatz von 3 ml Chloroform (3.2) wird bis zur gleichmäßigen Verteilung der Probe geschüttelt. Die Mischung wird mit Ethanol (3.3) bis zur Marke aufgefüllt und kräftig geschüttelt, bis sich eine klare oder nahezu klare Lösung ergibt.

5.2. Dünnschichtchromatographie

5.2.1. Die Doppeltrogkammer (4.2) wird mit n-Pentan (3.4) wie folgt gesättigt: Die Kammerwand des hinteren Troges wird mit Chromatographiepapier (4.3) ausgelegt, wobei der untere Rand des Papiers in den Trog hineinreicht. 25 ml n-Pentan (3.4) werden durch Gießen über die sichtbare Oberfläche des Chromatographiepapiers in den hinteren Trog eingefüllt. Anschließend wird die Kammer sofort mit dem Deckel verschlossen und 15 Minuten stehengelassen.

5.2.2. 10 µl der Probelösung (5.1) und 10 µl Benzylalkohol-Standardlösung (3.6) werden auf die Dünnschichtplatte an geeigneten Punkten entlang der Startlinie aufgetragen.

5.2.3. In den vorderen Trog der Kammer werden 10 ml Fließmittel (3.5) pipettiert und anschließend sofort die Dünnschichtplatte (5.2.2) in denselben Trog hineingestellt. Der Kammerdeckel wird sofort wieder aufgesetzt und die Dünnschichtplatte bis zu einer Höhe von 150 mm entwickelt. Die Dünnschichtplatte wird der Kammer entnommen und bei Raumtemperatur aufbewahrt, bis das Fließmittel verdunstet ist.

5.2.4. Die Dünnschichtplatte (5.2.3) wird im ultravioletten Licht der Wellenlänge 254 nm betrachtet; die violetten Flecke werden markiert. Anschließend wird die Dünnschichtplatte mit dem Sprühreagenz (3.8) besprüht und danach ungefähr 15 Minunten lang bei 120 °C erhitzt. Benzylalkohol erscheint als dunkelblauer Fleck.

5.2.5. Der R_f-Wert des Benzylalkohol-Standards wird berechnet. Das Chromatogramm zeigt bei Vorhandensein von Benzylalkohol in der Probelösung einen dunkelblauen Fleck mit dem R_f-Wert und der Farbe des Fleckes der Benzylalkohol-Standardlösung.

Nachweisgrenze: 0,1 µg Benzylalkohol.

B. Bestimmung

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von Benzylalkohol in kosmetischen Mitteln.

2. *Definition*

Der nach diesem Verfahren bestimmte Gehalt an Benzylalkohol wird in Massenprozent (% m/m) ausgedrückt.

3. *Kurzbeschreibung*

Die Probe wird mit Methanol extrahiert und der Gehalt an Benzylalkohol im Extrakt durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt.

4. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein und, wo erforderlich, für die HPLC geeignet sein.

4.1. Methanol.

4.2. 4-Ethoxyphenol.

4.3. Benzylalkohol.

4.4. Fließmittel (Mobile Phase): Methanol (4.1)/Wasser (45 : 55; v/v).

4.5. Benzylalkohol-Stammlösung: Ungefähr 0,1 g Benzylalkohol (4.3) wird genau in einen 100-ml-Meßkolben eingewogen, mit Methanol (4.1) gelöst, zur Marke aufgefüllt und gemischt.

4.6. Stammlösung des inneren Standards: Ungefähr 0,1 g 4-Ethoxyphenol (4.2) wird genau in einen 100-ml-Meßkolben eingewogen, mit Methanol (4.1) gelöst, bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

4.7. Standardlösungen: Gemäß nachstehender Tabelle werden die entsprechenden Volumina der Benzylalkohol-Stammlösung (4.5) und der Stammlösung des inneren Standards (4.6) in eine Serie von 25-ml-Meßkolben einpipettiert und mit Methanol (4.1) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt.

Standard-lösung	Benzylalkohol		4-Ethoxyphenol	
	(4.5) (ml)	µg/ml (*)	(4.6) (ml)	µg/ml (*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Diese Werte sind richtungsweisend und entsprechen den Konzentrationen in den bereiteten Standardlösungen, wenn Lösungen von Benzylalkohol (4.5) und 4-Ethoxyphenol (4.6) verwendet werden, die genau 0,1 % (m/v) Benzylalkohol bzw. genau 0,1 % (m/v) 4-Ethoxyphenol enthalten.

5. *Geräte*

5.1. Normale Laborausstattung.

5.2. Hochleistungsflüssigkeitschromatograph (HPLC) mit Ultra-violett-Detektor mit variabler Wellenlänge und mit 10 µl Probenschleife.

5.3. Analytische Trennsäule:
Material: Edelstahl,
Länge: 25 cm,
Innendurchmesser: 4,6 mm,
Aktiver Festkörper: 5 µm Spherisorb ODS oder gleichwertiges Erzeugnis.

5.4. Wasserbad.

5.5 Ultraschallbad.

5.6. Zentrifuge.

5.7. Zentrifugengläser mit 15 ml Fassungsvermögen.

6. *Durchführung*

6.1. Vorbereitung der Probe

6.1.1. Ungefähr 0,1 g (m Gramm) der Probe wird genau in ein Zentrifugenglas (5.7) eingewogen und mit 5 ml Methanol (4.1) versetzt.

6.1.2. Die Mischung wird 10 Minuten im 50 °C warmen Wasserbad (5.4) erwärmt und anschließend in ein Ultraschallbad (5.5) bis zur homogenen Verteilung gestellt.

6.1.3. Nach dem Abkühlen wird die Mischung 5 Minuten bei 3 500 U/min zentrifugiert.

6.1.4. Die überstehende Flüssigkeit wird in einen 25-ml-Meßkolben übergeführt.

6.1.5. Der Rückstand wird mit weiteren 5 ml Methanol (4.1) extrahiert. Die Extrakte werden im 25-ml-Meßkolben vereinigt.

6.1.6. Nach Zusatz von 2,0 ml Stammlösung des inneren Standards (4.6) mittels Pipette wird mit Methanol (4.1) zur Marke aufgefüllt und gemischt. Diese Lösung wird, wie im Abschnitt 6.4 beschrieben, chromatographiert.

6.2. Bedingungen für die Chromatographie

6.2.1. Volumenstrom der mobilen Phase: 2 ml/min.

6.2.2. Detektionswellenlange: 210 nm.

6.3. Eichung

6.3.1. 10 µl jeder der fünf Benzylalkohol-Standardlösungen (4.7) werden chromatographiert und die Peakflächen des Benzylalkohols und des 4-Ethoxyphenols gemessen.

6.3.2. Für jede Konzentration der Benzylalkohol-Standardlösungen (4.7) wird das Verhältnis zwischen der Peakfläche des Benzylalkohols und der Peakfläche des 4-Ethoxyphenols ermittelt. Es wird eine Eichkurve gezeichnet, indem die Peakflächenverhältnisse als Ordinate und die entsprechenden Konzentrationen des Benzylalkohols in Mikrogramm je Milliliter als Abszisse aufgetragen werden.

6.4. Bestimmung

6.4.1. 10 µl der Probelösung (6.1.6) werden chromatographiert, die Peakflächen des Benzylalkohols und des 4-Ethoxyphenols gemessen und das Peakflächenverhältnis von Benzylalkohol zu 4-Ethoxyphenol ermittelt. Die Wiederholbarkeit des Meßsignals wird durch wiederholtes Chromatographieren überprüft.

6.4.2. Aus der Eichkurve (6.3.2) wird die Konzentration des Benzylalkohols abgelesen, die dem Peakflächenverhältnis von Benzylalkohol zu 4-Ethoxyphenol entspricht.

7. *Berechnung*

Der Benzylalkoholgehalt in Massenprozent (% m/m) der Probe wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ (m/m) Benzylalkohol} = \frac{c}{400 \times m}$$

m = Einwaage der untersuchten Probe im Gramm (6.1.1),

c = aus der Eichkurve abgelesene Konzentration an Benzylalkohol der Probelösung (6.1.6) in Mikrogramm je Milliliter.

8. *Wiederholbarkeit*(1)

Bei einem Benzylalkoholgehalt von 1 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier an derselben Probe parallel durchgeführter Bestimmungen um nicht mehr als 0,10 % (m/m) voneinander abweichen.

(1) ISO 5725.

Anlage 34

NACHWEIS VON ZIRKONIUM UND BESTIMMUNG VON ZIRKONIUM, ALUMINIUM UND CHLOR IN NICHTAEROSOLFÖRMIGEN ANTITRANSPIRANTIEN

Die Methode umfaßt fünf Schritte:

A. Nachweis von Zirkonium,

B. Bestimmung von Zirkonium,

C. Bestimmung von Aluminium,

D. Bestimmung von Chlor,

E. Berechnung des Verhältnisses von Aluminiumatomen zu Zirkoniumatomen sowie von Aluminium- und Zirkoniumatomen zu Chloratomen.

A. Nachweis von Zirkonium

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode eignet sich zum Nachweis von Zirkonium in nichtaerosolförmigen Antitranspirantien. Es werden keine Methoden beschrieben, die für den Nachweis des Aluminium-Zirkonium-Chlorid-Hydroxid-Komplexes [$Al_xZR(OH)_yCl_z \cdot nH_2O$] geeignet sind.

2. *Kurzbeschreibung*

Zirkonium wird durch den charakteristischen rot-violetten Niederschlag nachgewiesen, der mit Alizarinrot S unter stark sauren Bedingungen entsteht.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salzsäure, konzentriert (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Alizarinrot-S-Lösung (Cl. 58005): 2%iges (m/v) wäßriges Natrium-Alizarinsulphonat.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

5. *Arbeitsvorschrift*

5.1. In einem Reagenzglas werden zu ca. 1 g Probe 2 ml Wasser gegeben. Das Reagenzglas wird verschlossen und geschüttelt.

5.2. Es werden 3 Tropfen Alizarinrot-S-Lösung (3.2) und dann 2 ml konzentrierte Salzsäure (3.1) zugegeben. Das Reagenzglas wird verschlossen und geschüttelt.

5.3. Das Reagenzglas wird etwa 2 Minuten stehengelassen.

5.4. Eine Lösung und ein Niederschlag von rotvioletter Farbe zeigen das Vorhandensein von Zirkonium.

B. Bestimmung von Zirkonium

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode eignet sich zur Bestimmung von Zirkonium in Aluminium-Zirkonium-Chlorid-Hydroxid-Komplexen bis zu einer Höchstkonzentration von 7,5 % (m/m) Zirkonium in nichtaerosolförmigen Antitranspirantien.

3. *Kurzbeschreibung*

Zirkonium wird unter sauren Bedingungen aus dem Produkt extrahiert und durch Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salzsäure, konzentriert (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Salzsäurelösung, 10 % (v/v): zu 500 ml Wasser werden in einem Becherglas unter ständigem Rühren 100 ml konzentrierte Salzsäure (3.1) gegeben. Diese Lösung wird in einen 1-l-Meßkolben geschüttet und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

3.3. Zirkonium-Maßlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salzsäurelösung („SpektrosoL" oder gleichwertiges).

3.4. Aluminiumchlorid-Reagenz (hydriert) [$AlCl_3 \cdot 6H_2O$]: 22,6 g Aluminiumchloridhexahydrat werden in 250 ml 10%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) gelöst.

3.5. Ammoniumchloridreagenz: 5,0 g Ammoniumchlorid werden in 250 ml 10%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) gelöst.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Heizplatte mit Magnetrührer.

4.3. Filterpapier (Whatman Nr. 41 oder gleichwertiges).

4.4. Atomabsorptionsspektrometer mit Zirkonium-Hohlkathodenlampe.

5. *Arbeitsvorschrift*

5.1. Vorbereitung der Probe

5.1.1. Ungefähr 1,0 g (m Gramm) einer homogenen Probe des Produkts werden in ein 150-ml-Becherglas sorgfältig eingewogen. Man fügt 40 ml Wasser und 10 ml konzentrierte Salzsäure (3.1) hinzu.

5.1.2. Das Becherglas wird auf eine Heizplatte mit Magnetrührer (4.2) gestellt. Der Inhalt wird unter Rühren zum Kochen gebracht. Um rasches Verdunsten zu verhindern, wird das Becherglas mit einem Uhrglas abgedeckt. Nach 5minütigem Kochen wird das Becherglas von der Heizplatte genommen und auf Raumtemperatur abgekühlt.

5.1.3. Mit Hilfe des Filterpapiers (4.3) wird der Inhalt des Becherglases in einen 100-ml-Meßkolben filtriert. Das Becherglas wird zweimal mit je 10 ml Wasser gespült, und das Spülwasser wird nach Filtration in den Meßkolben gegeben. Der Meßkolben wird bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und der Inhalt vermischt. Diese Lösung wird auch für die Aluminiumbestimmung verwendet (Teil C).

5.1.4. In einen 50-ml-Meßkolben werden 20,00 ml der Probenlösung (5.1.3), 5,00 ml Aluminiumchloridreagenz (3.4) und 5,00 ml Ammoniumchloridreagenz (3.5) pipettiert. Die Lösung wird mit 10%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und vermischt.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektroskopie

Flamme: Distickstoffoxid/Acetylen,

Wellenlänge: 360,1 nm,

Untergrundkorrektur: nein,

Brennstoff: reich; für maximale Absorption müssen Brennerhöhe und Brennstoff optimiert werden.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Zirkonium-Maßlösung (3.3) werden 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 und 25,00 ml in eine Reihe von 50-ml-Meßkolben pipettiert. In jeden Meßkolben werden 5,00 ml Aluminiumchloridreagenz (3.4) und 5,00 ml Ammoniumchloridreagenz (3.5) pipettiert. Die Lösungen werden mit 10%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) zur Marke aufgefüllt und vermischt. Sie enthalten 100, 200, 300, 400 bzw. 500 µg Zirkonium je Milliliter.

Auf die gleiche Weise wird eine Blindlösung ohne Zirkonium-Maßlösung zubereitet.

5.3.2. Die Absorption der Blindlösung (5.3.1) wird gemessen und der erhaltene Wert als Nullpunkt der Zirkoniumkonzentration für die Eichkurve gesetzt. Die Absorption jeder Zirkonium-Eichlösung (5.3.1) wird gemessen. Man zeichnet eine Eichkurve, die den Zusammenhang zwischen Absorptionswerten und Zirkoniumkonzentration aufzeigt.

5.4. Bestimmung

Die Absorption der Probenlösung (5.1.4) wird gemessen. Aus der Eichkurve liest man die zugehörige Zirkoniumkonzentration ab.

Berechnung

Der Zirkoniumgehalt der Probe in Massenprozent wird nach folgender Formel berechnet:

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

Dabei ist:

m = Masse der zu analysierenden Probe (5.1.1) in Gramm; und

c = die aus der Eichkurve abgelesene Zirkoniumkonzentration in der Probenlösung (5.1.4) in Mikrogramm je Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit* (1)

Bei einem Zirkoniumgehalt von 3,00 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier parallel laufender Bestimmungen an derselben Probe nicht mehr als 0,10 % (m/m) voneinander abweichen.

8. *Anmerkungen*

Statt der Atomabsorptionsspektroskopie kann auch eine ICP-Emissionsspektroskopie durchgeführt werden.

C. Bestimmung von Aluminium

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode eignet sich zur Bestimmung von Aluminium in Aluminium-Zirkonium-Chlorid-Hydroxid-Komplexen bis zu einer Höchstkonzentration von 12 % (m/m) Aluminium in nichtaerosolförmigen Antitranspirantien.

2. *Kurzbeschreibung*

Aluminium wird unter sauren Bedingungen aus dem Produkt extrahiert und mit Hilfe der Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salzsäure, konzentriert (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Salzsäurelösung 1 % (v/v): zu 500 ml Wasser werden in einem Becherglas unter ständigem Rühren 10 ml konzentrierte Salzsäure (3.1) gegeben. Die Lösung wird in einen 1-l-Meßkolben geschüttet und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

3.3. Aluminium-Maßlösung, 1 000 µg/ml in 0,5 M Salpetersäurelösung („SpektrosoL" oder gleichwertiges).

3.4. Kaliumchloridreagenz: 10,0 g Kaliumchlorid werden in 250 ml 1%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) gelöst.

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Atomabsorptionsspektrometer mit Aluminium-Hohlkathodenlampe.

5. *Arbeitsvorschrift*

5.1. Vorbereitung der Probe

Zur Bestimmung des Aluminiumgehalts wird die gemäß B. 5.1.3 zubereitete Lösung verwendet.

5.1.1. In einen 100-ml-Meßkolben werden 5,00 ml der Probenlösung (B. 5.1.3) und 10,00 ml Kaliumchloridreagenz (3.4) pipettiert. Die Lösung wird mit 1%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) bis zur Marke aufgefüllt und vermischt.

5.2. Bedingungen für die Atomabsorptionsspektroskopie

Flamme: Distickstoffoxid/Acetylen,

Wellenlänge: 309,3 nm

Untergundkorrektur: nein,

Brennstoff: reich; für maximale Absorption müssen Brennerhöhe und Brennstoff optimiert werden.

5.3. Eichung

5.3.1. Von der Aluminium-Maßlösung (3.3) werden 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 und 5,00 ml in eine Reihe von 100-ml-Meßkolben pipettiert. In jeden Meßkolben werden 10,00 ml Kaliumchloridreagenz (3.4) pipettiert. Die Lösungen werden mit 1%iger (v/v) Salzsäurelösung (3.2) zur Marke aufgefüllt und vermischt. Sie enthalten 10, 20, 30, 40 und 50 µg Aluminium je Milliliter.

Auf die gleiche Weise wird eine Blindlösung ohne Aluminium-Maßlösung zubereitet.

(1) ISO 5725.

5.3.2. Die Absorption der Blindlösung (5.3.1) wird gemessen und der erhaltene Wert als Nullpunkt der Aluminiumkonzentration für die Eichkurve gesetzt. Die Absorption jeder Aluminiumeichlösung wird gemessen. Man zeichnet eine Eichkurve, die den Zusammenhang zwischen Absorptionswerten und Aluminiumkonzentration aufzeigt.

5.4. Bestimmung

Die Absorption der Probenlösung (5.1.1) wird gemessen. Aus der Eichkurve liest man die zugehörige Aluminiumkonzentration ab.

6. *Berechnung*

Der Aluminiumgehalt der Probe in Massenprozent wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ (m/m) Aluminium} = \frac{c}{5 \times m}$$

Dabei ist:

m = Masse der zu analysierenden Probe (B. 5.1.1) in Gramm; und

c = die aus der Eichkurve abgelesene Aluminiumkonzentration in der Probenlösung (5.1.1) in Mikrogramm je Milliliter.

7. *Wiederholbarkeit* (1)

Bei einem Aluminiumgehalt von 3,5 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier parellel laufender Bestimmungen an derselben Probe nicht mehr als 0,10 % (m/m) voneinander abweichen.

8. *Anmerkungen*

Statt der Atomabsorptionsspektroskopie kann auch eine ICP-Emissionsspektroskopie durchgeführt werden.

D. Bestimmung von Chlor

1. *Zweck und Anwendungsbereich*

Diese Methode eignet sich zur Bestimmung von Chlor, das als Chlorid-Ion in Aluminium-Zirkonium-Chlorid-Hydroxid-Komplexen in nichtaerosolförmigen Antitranspirantien vorliegt.

2. *Kurzbeschreibung*

Der Chloridgehalt im Produkt wird durch potentiometrische Titration mit Hilfe von Silbernitrat-Maßlösung bestimmt.

3. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein sein.

3.1. Salpetersäure, konzentriert (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Salpetersäurelösung, 5 % (v/v): zu 250 ml Wasser werden in einem Becherglas unter ständigem Rühren 25 ml konzentrierte Salpetersäure (3.1) gegeben. Die Lösung wird in einen 500-ml-Meßkolben geschüttet und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

3.3. Aceton.

3.4. Silbernitrat, 0,1 M Maßlösung („AnalaR" oder gleichwertiges).

4. *Geräte*

4.1. Normale Laborausstattung.

4.2. Heizplatte mit Magnetrührer.

4.3. Silberelektrode.

4.4. Calomel-Bezugselektrode.

4.5. pH/Millivoltmeter, das für potentiometrische Titration geeignet ist.

(1) ISO 5725.

5. *Arbeitsvorschrift*

5.1. Vorbereitung der Probe

5.1.1. Ungefähr 1,0 g (m Gramm) einer homogenen Probe des Produkts werden in ein 250-ml-Becherglas sorgfältig eingewogen. Man fügt 80 ml Wasser und 20 ml 5%ige (v/v) Salpetersäurelösung (3.2) hinzu.

5.1.2. Das Becherglas wird auf eine Heizplatte mit Magnetführer (4.2) gestellt. Der Inhalt wird unter Rühren zum Kochen gebracht. Um schnelles Austrocknen zu verhindern, wird das Becherglas mit einem Uhrglas abgedeckt. Nach 5minütigem Kochen wird das Becherglas von der Heizplatte genommen und auf Raumtemperatur abgekühlt.

5.1.3. Man fügt 10 ml Aceton (3.3) hinzu, taucht die Elektroden (4.3 und 4.4) in die Lösung und beginnt zu rühren. Man titriert potentiometrisch mit 0,1 M Silbernitratlösung (3.4) und zeichnet eine Differentialkurve zur Bestimmung des Endpunkts (V ml).

6. *Berechnung*

Der Chlorgehalt der Probe in Massenprozent wird nach folgender Formel berechnet:

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

Dabei ist:

m = Masse der zu analysierenden Probe (5.1.1) in Gramm;
und

V = Volumen des bis zum Endpunkt der Titration (5.1.3) verbrauchten 0,1 M Silbernitrats in Milliliter.

Wiederholbarkeit (1)

Bei einem Chlorgehalt von 4 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier parallel laufender Bestimmungen an derselben Probe nicht mehr als 0,10 % (m/m) voneinander abweichen.

E. Berechnung des Verhältnisses von Aluminiumatomen zu Zirkoniumatomen sowie von Aluminium- und Zirkoniumatomen zu Chloratomen

1. *Berechnung des Verhältnisses von Aluminiumatomen zu Zirkoniumatomen*

Das Al: Zr-Verhältnis wird nach folgender Formel berechnet:

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

2. *Berechnung des Verhältnisses von Aluminium- und Zirkoniumatomen zu Chloratomen*

Das (Al + Zr): Cl-Verhältnis wird nach folgender Formel berechnet:

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

Anlage

NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON HEXAMIDEN, DIBROMHEXAMIDIN, DIBROMPROPAMIDIN UND CHLORHEXIDIN

1. *Zweck und Anwendungsbereiuch*

Diese Methode beschreibt ein Verfahren zum Nachweis und zur Bestimmung von

— Hexamidin und dessen Salzen einschließlich Isethionat und p-Hydroxybenzoat,

— Dibromhexamidin und dessen Salzen einschließlich Isethionat,

— Dibrompropamidin und dessen Salzen einschließlich Isethionat,

— Chlorhexidindiacetat, -digluconat und -dihydrochlorid

in kosmetischen Erzeugnissen.

2. *Definition*

Der nach diesem Verfahren ermittelte Gehalt an Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin und Chlorhexidin wird in Massenprozent (% m/m) des Erzeugnisses angegeben.

3. *Kurzbeschreibung*

Die qualitative und quantitative Bestimmung erfolgt mit Hilfe der Ionenpaar-HPLC mit reverser Phase und nachfolgender UV-Spektrophotometrie. Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin und Chlorhexidin werden über ihre Retentionszeit nachgewiesen.

(1) ISO 5725.

4. *Reagenzien*

Alle Reagenzien müssen analysenrein und, wo erforderlich, für die HPLC geeignet sein.

4.1. Methanol.

4.2. Natriumsalz der 1-Heptansulfonsäure, Monohydrat.

4.3. Essigsäure (Eisessig, d_{20} = 1,05 g/ml).

4.4. Natriumchlorid.

4.5. Fließmittel (Mobile Phase).

4.5.1. Eluent I: 0,005 M Lösung des Natriumsalzes der 1-Heptansulfonsäure (4.2) in Methanol (4.1), mit Essigsäure (4.3) auf einen scheinbaren pH-Wert von 3,5 eingestellt.

4.5.2. Eluent II: 0,005 M wäßrige Lösung des Natriumsalzes der 1-Heptansulfonsäure (4.2), mit Essigsäure (4.3) auf einen pH-Wert von 3,5 eingestellt.

Bemerkung: **Die Eluenten I und II können erforderlichenfalls zur Verbesserung der Peakform modifiziert und wie folgt hergestellt werden:**

— Eluent I: 5,84 g Natriumchlorid (4.4) und 1,1013 g des Natriumsalzes der 1-Heptansulfonsäure (4.2) werden in 100 ml Wasser gelöst. Nach Zusatz von 900 ml Methanol (4.1) wird die Mischung mit Essigsäure (4.3) auf einen scheinbaren pH-Wert von 3,5 eingestellt.

— **Eluent II: 5,84 g Natriumchlorid (4.4) und 1,1013 g des Natriumsalzes der 1-Heptansulfonsäure (4.2) werden in 1 Liter Wasser gelöst und mit Essigsäure (4.3) auf einen pH-Wert von 3,5 eingestellt.**

4.6. Hexamidindiisethionat [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$].

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

4.8. Dibrompropamidindiisethionat [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2\ 2C_2H_6O_4S$].

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

4.10. Referenzlösungen: 0,05%ige (m/v) Lösungen von jedem der vier Konservierungsmittel (4.6 bis 4.9) in Eluent I (4.5.1).

4.11. 3,4,4 -Trichlor-carbanilid (Triclocarban).

4.12. 4,4 -Dichlor-3-trifluormethyl-carbanilid (Halocarban).

5. *Geräte*

5.1. Normale Laborausstattung.

5.2. Hochleistungsflüssigkeitschromatograph mit UV-Detektor mit variabler Wellenlänge.

5.3. Analytische Trennsäule.
Material: Edelstahl,
Länge: 30 cm,
Innendurchmesser: 4 mm,
Aktiver Festkörper: µ-Bondapak C_{18}, 10 µm, oder gleichwertiges Erzeugnis.

5.4. Ultraschallbad.

6. *Nachweis*

6.1. Vorbereitung der Probe

Ungefähr 0,5 g Probe werden in einen 10-ml-Meßkolben eingewogen und mit Eluent I (4.5.1) zur Marke aufgefüllt. Der Meßkolben wird 10 Minuten lang in ein Ultraschallbad (5.4) gestellt. Die Mischung wird anschließend zentrifugiert oder durch ein Faltenfilter filtriert. Die überstehende Flüssigkeit bzw. das Filtrat wird für den Nachweis verwendet.

6.2. Chromatographie

6.2.1. Gradientenprogramm:

Zeit (Minuten)	Eluent I (4.5.1) (% v/v)	Eluent II (4.5.2) (% v/v)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Volumenstrom der mobilen Phase (6.2.1): 1,5 ml/min,
Säulentemperatur: 35 °C.

6.2.3. Detektionswellenlänge: 264 nm.

6.2.4. 10 µl jeder Referenzlösung (4.10) werden injiziert und die Chromatogramme aufgezeichnet.

6.2.5. 10 µl der Probelösung (6.1) werden injiziert und das Chromatogramm aufgezeichnet.

6.3. Durch Vergleich der Retentionszeiten der nach 6.2.5 aufgezeichneten Peaks mit den nach 6.2.4 ermittelten Retentionszeiten wird das Vorhandensein von Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin bzw. Chlorhexidin nachgewiesen.

7. *Bestimmung*

7.1. Herstellung der Standardlösungen

Als innerer Standard wird eines der Konservierungsmittel (4.6 bis 4.9), das in der Probe nicht vorhanden ist, verwendet. Ist dies nicht möglich, kann Triclocarban (4.11) oder Halocarban (4.12) verwendet werden.

7.1.1. 0,05%ige (m/v) Stammlösung des nach 6.3 identifizierten Konservierungsmittels in Eluent I (4.5.1).

7.1.2. 0,05%ige (m/v) Stammlösung des als inneren Standard gewählten Konservierungsmittels in Eluent I (4.5.1).

7.1.3. **Gemäß nachstehender Tabelle werden für jedes identifizierte Konservierungsmittel vier Standardlösungen** hergestellt, indem die entsprechenden Volumina der Stammlösung des identifizierten Konservierungsmittels (7.1.1) und der Stammlösung des inneren Standards (7.1.2) in eine Serie von 10-ml-Meßkolben pipettiert und mit Eluent I (4.5.1) bis zur Marke aufgefüllt und gemischt werden.

Standard-lösung	Stammlösung des inneren Standards	Stammlösung des identifizierten Konservierungsmittels	
	ml (7.1.2)	ml (7.1.1)	µg/ml (*)
I	1,0	0,5	25
II	1,0	1,0	50
III	1,0	1,5	75
IV	1,0	2,0	100

(*) Diese Werte sind richtungsweisend und entsprechen den Konzentrationen in den bereiteten Standardlösungen, wenn Stammlösungen verwendet werden, die genau 0,05 % (m/v) des identifizierten Konservierungsmittels enthalten.

7.2. **Vorbereitung der Probe**

7.2.1. Ungefähr 0,5 g der Probe (p Gramm) werden in einen 10-ml-Meßkolben genau eingewogen, mit 1,0 ml der Lösung des inneren Standards (7.1.2) und 6 ml Eluent I (4.5.1) versetzt und gemischt.

7.2.2. Die Mischung wird 10 Minuten in ein Ultraschallbad (5.4) gestellt und nach dem Abkühlen mit dem Eluenten I (4.5.1) zur Marke aufgefüllt und gemischt. Die Mischung wird anschließend zentrifugiert oder durch ein Faltenfilter filtriert. Die überstehende Flüssigkeit bzw. das Filtrat wird chromatographiert.

7.3. Chromatographie

7.3.1. Der Gradient und der Volumenstrom der mobilen Phase, die Säulentemperatur und die Detektionswellenlänge werden entsprechend den Bedingungen für den Nachweis (6.2.1 bis 6.2.3) eingestellt.

7.3.2. 10 µl der Probelösung (7.2.2) werden chromatographiert, die Peakflächen gemessen und das Verhältnis zwischen der Peakfläche des zu bestimmenden Konservierungsmittels und der Peakfläche des inneren Standards ermittelt. Die Wiederholbarkeit des Meßsignals wird durch wiederholtes Chromatographieren überprüft.

7.4. Eichung

7.4.1. 10 µl jeder der vier Standardlösungen (7.1.3) werden chromatographiert und die Peakflächen gemessen.

7.4.2. Für jede Standardlösung (7.1.3) wird das Verhältnis zwischen der Peakfläche des Hexamidins, des Dibromhexamidins, des Dibrompropamidins bzw. des Chlorhexidins und der Peakfläche des inneren Standards ermittelt.

Es wird eine Eichkurve gezeichnet, indem die Peakflächenverhältnisse als Ordinate und die entsprechenden Konzentrationen des zu bestimmenden Konservierungsmittels in der Standardlösung in Mikrogramm je Milliliter als Abszisse aufgetragen werden.

7.4.3. Aus der Eichkurve (7.4.2) wird die Konzentration des zu bestimmenden Konservierungsmittels abgelesen, die dem nach 7.3.2 ermittelten Peakflächenverhältnis entspricht.

8. *Berechnung*

Der Gehalt an Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin oder Chlorhexidin in Massenprozent (% m/m) der Probe wird nach folgender Formel berechnet:

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

c = aus der Eichkurve abgelesene Konzentration des zu bestimmenden Konservierungsmittels der Probelösung in Mikrogramm je Milliliter,

p = Einwaage der untersuchten Probe in Gramm (7.2.1),

MW_1 = Molmasse der basischen Form des zu bestimmenden Konservierungsmittels,

MW_2 = Molmasse des entsprechenden Salzes (siehe Abschnitt 10).

9. *Wiederholbarkeit* (1)

Bei einem Gehalt an Hexamidin, Dibromhexamidin, Dibrompropamidin oder Chlorhexidin von 0,1 % (m/m) dürfen die Ergebnisse zweier an derselben Probe parallel durchgeführter Bestimmungen um nicht mehr als 0,005 % (m/m) voneinander abweichen.

10. *Molmassen*

Hexamidin	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Hexamidindiisethionat	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Hexamidin-bis (p-hydroxybenzoat)	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromhexamidin	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Dibromhexamidindiisethionat	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibrompropamidin	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Dibrompropamidindiisethionat	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Chlorhexidin	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Chlorhexidindiacetat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Chlorhexidindigluconat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Chlorhexidindihydrochlorid	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725.