

KOMMISSION

DRITTE RICHTLINIE DER KOMMISSION

vom 27. September 1983

zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über Analysemethoden zur Kontrolle der Zusammensetzung der kosmetischen Mittel

(83/514/EWG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 76/768/EWG des Rates vom 27. Juli 1976 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über kosmetische Mittel ⁽¹⁾, zuletzt geändert durch die Richtlinie 83/341/EWG ⁽²⁾, insbesondere auf Artikel 8 Absatz 1,

in Erwägung nachstehender Gründe:

Die Richtlinie 76/768/EWG sieht amtliche Kontrollen der kosmetischen Mittel vor um festzustellen, ob die aufgrund der Gemeinschaftsbestimmungen über die Zusammensetzung der kosmetischen Mittel vorgeschriebenen Bedingungen erfüllt sind.

Hierzu müssen so rasch wie möglich alle erforderlichen Analysemethoden festgelegt werden. Nachdem nunmehr mit der Festlegung verschiedener Methoden in den Richtlinien 80/1335/EWG ⁽³⁾ und 82/434/EWG ⁽⁴⁾ der Kommission zwei Etappen auf diesem Wege erreicht wurden, bedeutet die Festlegung der Methoden zur quantitativen Bestimmung von Dichlormethan und 1,1,1-Trichlorethan, zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von 8-Chinolinol und dessen Sulfat, zur quantitativen Bestimmung von Ammoniak, zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Nitromethan, zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Thioglykolsäure in Dauerwellenpräparaten, Haarentkräuselungsmitteln und Enthaarungsmitteln, zum Nachweis und zur quantitativen

Bestimmung von Hexachlorophen, zur quantitativen Bestimmung von Tosylchloramidum natricum, zur quantitativen Bestimmung von Gesamtfluorid in Zahnpasten, zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von quecksilberorganischen Verbindungen und zur quantitativen Bestimmung von Alkali- und Erdalkalisulfiden einen dritten Schritt in dieser Richtung.

Die in dieser Richtlinie vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ausschusses für die Anpassung an den technischen Fortschritt im Sinne der Richtlinie 76/768/EWG —

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN:

Artikel 1

Die Mitgliedstaaten treffen alle zweckdienlichen Maßnahmen, um sicherzustellen, daß für

- die quantitative Bestimmung von Dichlormethan und 1,1,1-Trichlorethan,
- den Nachweis und die quantitative Bestimmung von 8-Chinolinol und dessen Sulfat,
- die quantitative Bestimmung von Ammoniak,
- den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Nitromethan,
- den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thioglykolsäure in Dauerwellenpräparaten, Haarentkräuselungsmitteln und Enthaarungsmitteln,
- den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Hexachlorophen,
- die quantitative Bestimmung von Tosylchloramidum natricum,
- die quantitative Bestimmung von Gesamtfluorid in Zahnpasten,

⁽¹⁾ ABl. Nr. L 262 vom 27. 9. 1976, S. 169.

⁽²⁾ ABl. Nr. L 188 vom 13. 7. 1983, S. 15.

⁽³⁾ ABl. Nr. L 383 vom 31. 12. 1980, S. 27.

⁽⁴⁾ ABl. Nr. L 185 vom 30. 6. 1982, S. 1.

- den Nachweis und die quantitative Bestimmung von quecksilberorganischen Verbindungen,
- die quantitative Bestimmung von Alkali- und Erdalkalisulfiden

die amtlichen Kontrollen von kosmetischen Mitteln nach den im Anhang beschriebenen Methoden durchgeführt werden.

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten erlassen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften, um dieser Richtlinie bis zum 31. Dezember 1984 nachzukom-

men. Sie setzen die Kommission unverzüglich davon in Kenntnis.

Artikel 3

Diese Richtlinie ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 27. September 1983

Für die Kommission
Frans ANDRIESEN
Mitglied der Kommission

ANHANG**QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON DICHLORMETHAN UND 1,1,1-TRICHLOR-ETHAN****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 Aufnahme flasche (siehe Probenahme 5.3) ⁽¹⁾.****5.4. Druckgasspritze (siehe Probenahmemethode 5.4.2.2) ⁽¹⁾.****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.

⁽¹⁾ ABl. Nr. L 383 vom 31. 12. 1980, S. 27.

- 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 Aufnahme flasche 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 Aufnahme flasche wird mit 0,5 ml CCl_4 (4.2) gespült, das man verdunsten läßt.
Die Masse des internen Standards wird durch Differenzwägung der Aufnahme flasche 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 Aufnahme flaschen 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	Hallcomid M 18
	10 %	20 %
Temperatur:		
Säule:	65 °C	75 °C
Injektor:	150 °C	125 °C
Detektor:	150 °C	200 °C
Trärgas:		
Helium:	45 ml/min	60 ml/min
Vordruck:	2,5 bar	2,0 bar
Injektion:	15 µl	15 µl

8. ERMITTLUNG DER PROPORTIONALITÄTSKOEFFIZIENTEN

In einen Erlenmeyerkolben ist das folgende Gemisch genau einzuwiegen:

CH₂Cl₂ (4.3): 30 % m/m Dichlormethan,

CH₃CCl₃ (4.4): 35 % m/m Trichlorethan,

CHCl₃ (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 CHCl₃ : k = 1):

CH₂Cl₂ : k₁ = 0,78 ± 0,03

CH₃CCl₃ : k₂ = 1,00 ± 0,03

9.2. *Berechnung des prozentualen Anteils (m/m) von CH₂Cl₂ und CH₃CCl₃ in der zu untersuchenden Mischung*

k₁ : Proportionalitätskoeffizient von CH₂Cl₂,

k₂ : Proportionalitätskoeffizient von CH₃CCl₃,

m_a: Masse in g des zugesetzten CHCl₃,

m_s: Masse in g der zu untersuchenden Probe,

A_a: Peakfläche des CHCl₃,

A₁: Peakfläche des CH₂Cl₂,

A₂: Peakfläche des CH₃CCl₃,

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

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

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.

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 H₂O.

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 H₂SO₄ (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 H₂O (4.5) einwiegen. 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) einwiegen 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 PH 7**
- 27 g KH₂PO₄ und 70 g K₂HPO₄ · 3 H₂O in einen 1-Liter-Meßkolben einwiegen 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 wässrige Suspension noch zweimal mit je 10 ml Chloroform (4.3) extrahiert und die vereinigten und filtrierten Chloroform-extrakte in einem 100 ml Rundkolben (5.1) am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingengt. 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 eingengt.

- 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) einpipetiert. 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 $\lambda = 410$ 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 wässrige 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 wässrigen 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 wässrigen Phasen (6.2.2.2 bzw. das Eluat 6.2.2.3) werden am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bis fast zur Trockne eingengt.
- 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 $\lambda = 410$ nm gegen Chloroform gemessen.
7. **AUFSTELLEN DER EICKURVE**
In je einen 100 ml Rundkolben (5.1), der 3 ml 30%igen wässrigen 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

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

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 %.

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 NH₃.

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 H₂O).**

⁽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:

$$\text{NH}_3 \% (m/m) = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 4250}{m}$$

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 %.

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 Abschnitt II des Anhangs der Richtlinie 80/1335/EWG der Kommission vom 22. Dezember 1980 ⁽¹⁾ 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 des Abschnitts II 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 des Abschnitts II 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:

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

⁽¹⁾ ABl. Nr. L 383 vom 31. 12. 1980, S. 27.

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.

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 H₂O).

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 H₂S 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 H₂S, 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 SO₂ nach Ansäuern:

Verfahre wie in Abschnitt 4.1.2.2. Bringe zum Kochen. SO₂ ist erkennbar an seinem Geruch und seinem Reduktionsvermögen z.B. gegenüber MnO₄⁻.

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 I₂ in saurem Medium nach folgender Gleichung:

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:

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

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 Fällern 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) · 2H₂O, 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 H₂O: 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. Diazomethanolösung, 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 Diazomethanolösung (5.2.5.2) durchgeführt.

5.2.5.1 *Methylierung — in situ*

Gib 50 μ l 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 Diazomethanolösung**

Gib in einen mit Stopfen versehenen 5 ml Kolben 1 ml Diazomethanolösung (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:
Trärgas: 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.

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 F₂₅₄, 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 — wässrige 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.
Trärgas: 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.

**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 eingengt. 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 Chlordampf-atmosphäre, 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:

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

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.

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 Chromatogramm 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 einwiegen 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) einwiegen, 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 ATEFS/ACH berechnen und die entsprechende Menge Fluorid in mg (m₁) 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.

Trärgas:

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 ATEFS/ACH 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 Verhältnissen der Peakflächen ATEFS/ACH. 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:

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

m: Masse der Probe in mg (6.1.2),

m₁: 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.

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 orange-farbene 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 Vorsichtsmaßnahmen zu ergreifen.
- 5.1. *Mineralisierung*
- 5.1.1. Etwa 150 mg Probe in einen luftdicht verschließbaren Kolben genau einwiegen (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.

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 Schliffenmeyerkolben 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 $85 \pm 5^\circ\text{C}$ 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 $1\frac{1}{2}$ 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.