

Bestimmung von Konservierungsstoffen in Duschmitteln und Schaumbädern = Determination of preservatives in body shampoos and bubble baths

Autor(en): **Bürgi, Ch. / Otz, T.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **83 (1992)**

Heft 5

PDF erstellt am: **29.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982271>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Bestimmung von Konservierungsstoffen in Duschmitteln und Schaumbädern

Determination of Preservatives in Body Shampoos and Bubble Baths

Ch. Bürgi und *T. Otz*
Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Basel

Einleitung

In der Schweiz sind über 40 antimikrobiell wirksame Substanzen als Konservierungsmittel in Kosmetika zugelassen. Viele dieser Verbindungen sind in letzter Zeit unter Beschuss geraten, da sie bei empfindlichen Personen Allergien auslösen können. Um Produkte mit ungeeigneten Inhaltsstoffen meiden zu können, sind Allergiker auf eine Deklaration angewiesen. Eine Deklarationspflicht für Konservierungsmittel in Kosmetika wurde 1988 in einem Schreiben des Bundesamtes für Gesundheitswesen (1) vorgeschlagen. Um einen Einblick in die aktuelle Marktsituation zu erhalten und um die Einhaltung der erlaubten Höchstkonzentrationen (2) zu überprüfen, wurde von uns eine Untersuchung an Duschmitteln und Schaumbädern durchgeführt (3). Diese bezog sich auf die in Tabelle 1 und Abbildung 1 dargestellten Verbindungen, von welchen die meisten in der Fachliteratur als Allergene erwähnt wurden (Isothiazolinone (4–8), Parabene (8–11), Chlorkresol (11), Triclosan (8, 11), Triclocarban (8, 11), Bromchlorophen (11), Hexachlorophen (8, 11), Dibromdicyanobutan (12, 13)).

Es sind bereits einige Verfahren zur Analyse dieser Stoffe bekannt: *Matissek* (14, 15) veröffentlichte umfassende Arbeiten über Isothiazolinone; zahlreiche Autoren beschrieben die Dünnschichtchromatographie (DC) (16–19) und die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) (20–23) verschiedenster Konservierungsmittel für Kosmetika; *Kruijf* und *Schouten* (24) stellten ein Screening-Verfahren vor, mit dessen Hilfe Konservierungsstoffe in Kosmetika nachgewiesen werden können.

Auf der Grundlage dieser Arbeiten wurden Analysenmethoden entwickelt, welche es erlauben, die eingangs erwähnten Verbindungen zu identifizieren und zu quantifizieren.

Tabelle 1. Liste der untersuchten Konservierungsstoffe

Name	Synonyme (Auswahl)	CTFA-Bezeichnung	Chemische Bezeichnung	Handelsnamen (Auswahl)
(Methyl)isothiazolinone	(Methyl)isothiazolone			Kathon CG, Euxyl K 100
Methyl(chlor)isothiazolinon	Methyl(chlor)isothiazolon	Methyl(chlor)isothiazolinone	(5-Chlor-) 2-methyl-3(2H)-isothiazolon	
Phenoxyethanol	Ethylenglykolmonophenylether	Phenoxyethanol	2-Phenoxyethanol	Phenoxetol
Parabene	PHB-Ester			Nipagine, Solbrole
Methylparaben		Methylparaben	4-Hydroxy-benzoesäuremethylester	
Ethylparaben		Ethylparaben	" -ethylester	
n-Propylparaben	Propylparaben	Propylparaben	" -propylester	
iso-Propylparaben			" -isopropylester	
n-Butylparaben	Butylparaben	Butylparaben	" -butylester	
iso-Butylparaben			" -isobutylester	
Benzylparaben		Benzylparaben	" -benzylester	
Chlorkresol	4-Chlor-m-kresol	p-Chloro-m-cresol	4-Chlor-3-methylphenol	Preventol, PCMC
Triclosan	2,4,4'-Trichlor-2'-hydroxy-diphenylether	Triclosan	5-Chlor-2-(2,4-dichlorphenoxy)-phenol	Irgasan DP 300
Triclocarban	3,4,4'-Trichlorcarbanilid	Triclocarban	N-(4-Chlorphenyl)-N'-(3,4-dichlorphenyl)-harnstoff	TCC
Bromchlorophen	3,3'-Dibrom-5,5'-dichlor-2,2'-dihydroxy-diphenylmethan	Bromchlorophene	Bis-(3-Brom-5-chlor-2-hydroxyphenyl)-methan	Bromophen
Hexachlorophen	2,2'-Dihydroxy-3,5,6,3',5',6',-hexachlordiphenylmethan	Hexachlorophene	Bis-(3,5,6-Trichlor-2-hydroxyphenyl)-methan	Hexachlorophen
Dibromdicyanobutan	1,2-Dibrom-2,4-dicyanobutan	Methyldibromglutaronitrile	2-Brom-2'-brommethylpentandinitril	Euxyl K 400, Tektamer 38

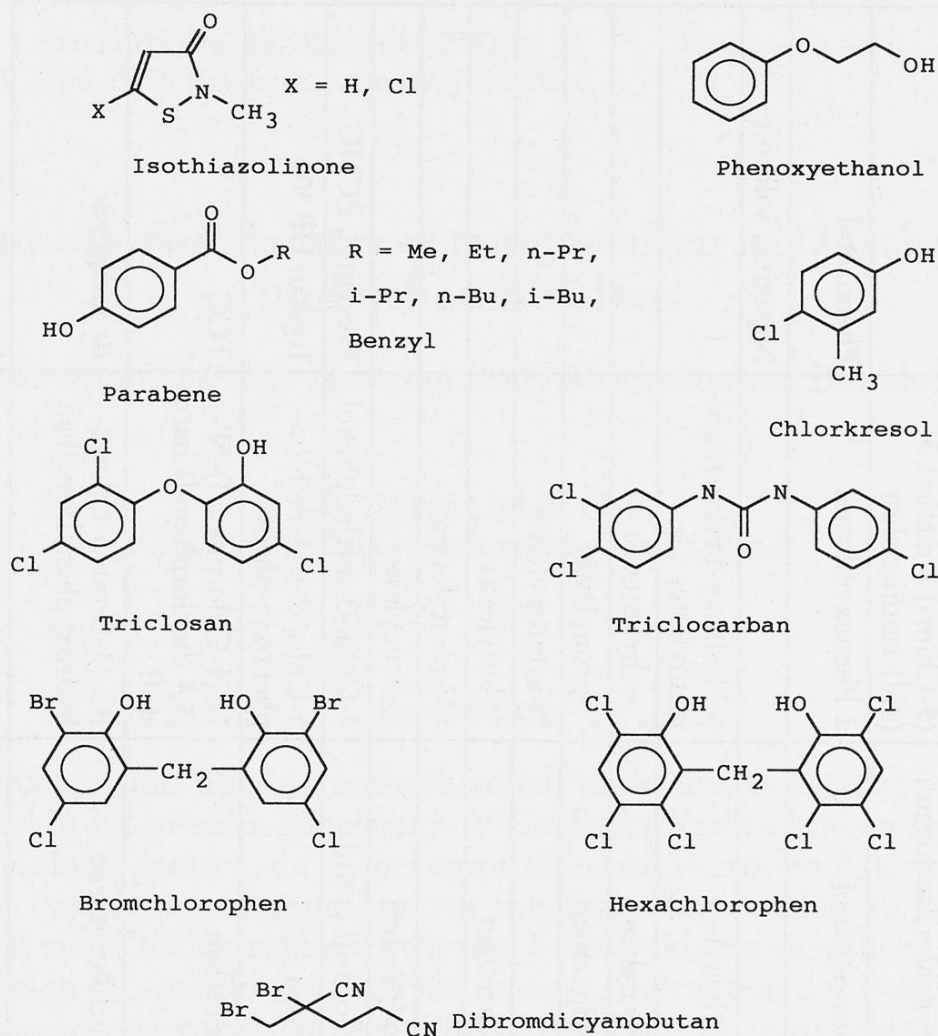


Abb. 1. Strukturformeln der in Tabelle 1 erwähnten Konservierungsstoffe

Problemstellung

Für unsere Untersuchung an Duschmitteln und Schaumbädern benötigten wir eine schnelle und zuverlässige Analysenmethode. Es war geplant, mit einem Screening-Verfahren (DC) zunächst den qualitativen Nachweis der Konservierungsstoffe zu liefern. Die Bestätigung und/oder Quantifizierung der «positiven» Proben sollte danach mittels einer unabhängigen Methode (HPLC, Gaschromatographie (GC)) erfolgen. Es wurde darauf geachtet, eine einfache Probenvorbereitung anzuwenden und in einem Chromatogramm möglichst viele Konservierungsmittel gleichzeitig bestimmen zu können.

Experimenteller Teil

DC

Apparate und Reagenzien

Auftragegeräte Camag Nanomat II und Camag Linomat IV. Camag Horizontalentwicklungskammer 10 x 10 cm. Desaga Tauchkammer «Baron-DC-Tauchfix». Zeiss Chromatogramm-Spektralphotometer KM3 mit System Photometer PMQ3. HPTLC-Fertigplatten RP-18 WF 254s 10 x 10 cm, Merck Art. 13124. HPTLC-Fertigplatten Kieselgel 60 F 254 10 x 10 cm, Merck Art. 5629.

Bond Elut^R C-18 Säule, size 3cc, bonded phase C18, mfg. Code 0194 (Varian) zur Probenvorbereitung.

Methanol (Merck Art. 6009), Aceton (Merck Art. 14), Essigsäure 100% (Merck Art. 63), Ammoniak 25% (Merck Art. 5432), Ethylacetat (Merck Art. 9623), Toluol (Merck Art. 8325), Wasser: R>17M52/cm (NANOpur).

Derivatisierungsreagenz A (25): 2,2'-Bipyridin (Merck Art. 3098), Eisen (III)-chlorid (Merck Art. 3943), Ethanol (Merck Art. 983).

Derivatisierungsreagenz B (25): Blei (IV)-acetat (Merck Art. 7375), 2', 7'-Dichlorfluorescein (Fluka Art. 35848), Essigsäure 100% (Merck Art. 63), Ethanol (Merck Art. 983), Toluol (Merck Art. 8325).

Probenvorbereitung für Phenoxyethanol, Parabene und halogenierte aromatische Verbindungen

2 g Kosmetikum wurden mit 2 ml Methanol versetzt und ca. 30 min im Ultraschallbad gelöst bzw. suspendiert. Unlösliche Anteile wurden abzentrifugiert. Zur Abtrennung störender Begleitstoffe wurde durch eine Bond Elut^R C-18 Säule, welche vorher mit 2 ml Methanol konditioniert wurde, filtriert. Die Absorption der gesuchten Stoffe an der C-18 Säule ist für unsere Zwecke vernachlässigbar.

Bedingungen für Phenoxyethanol, Parabene und halogenierte aromatische Verbindungen

HPTLC-Platten: RP-18 WF 254s. Kammersättigung: 10 min. Laufstrecke: 5 cm. Detektion: Fluoreszenzlöschung bei 254 nm bzw. Farbreaktion mit Derivatisierungsreagenz A. Auftragemenge: 1 µl.

Fliessmittel I: Methanol/1,25% Ammoniak/Wasser 60:5:35. Fliessmittel II: Methanol/0,63% Ammoniak/Wasser 60:5:35. Fliessmittel III: Methanol/Essigsäure/Wasser 60:10:30.

Bedingungen bei Verwendung von Derivatisierungsreagenz B: Kieselgel 60 F-254 HPTLC-Platten mit Fliessmittel (Bsp.) Toluol/Ethylacetat/25% Ammoniak 35:65:1.

HPLC

Apparate und Reagenzien

HPLC-Pumpe und System Controller Waters 600 MS mit UV-Detektor Waters 484 MS und Injektor Waters UK6. Auswertung mit Maxima 820 Chromatographie-Software auf ACP IV.

Vorsäule: Knauer LiChrosorb RP-18, 5 μ , 30 x 4,6 mm. Trennsäule: Knauer LiChrosorb RP-18, 5 μ , 120 x 4,6 mm.

Mobile Phase A: Methanol (LiChrosolv gradient grade, Merck Art. 6007). Mobile Phase B: 1% HCOOH (Merck Art. 264) in Wasser (LiChrosolv, Merck Art. 15333). Millex^R HV13-Filter, 0,45 μ m, 13 mm Filter unit, catalogue no. SJHV 013 NS (Millipore).

Methanol (Merck Art. 6009), HCOOH (Merck Art. 264), Wasser : R>17M52/cm (NANOpur).

Interne Standards: Vanillin (Fluka Art. 94750), Phenol (Merck Art. 206), 2,4-Dichlor-3,5-dimethylphenol (Heraeus Art. 002224).

Probenvorbereitung für Isothiazolinone

5 g Kosmetikum wurden in einen verschliessbaren 25-ml-Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 5 ml 1% Ameisensäure in Wasser versetzt (bei Bestimmung der Wiederfindungsraten wurden 50 μ g bzw. 100 μ g Isothiazolinone zugesetzt). Die Probe wurde gut geschüttelt und ca. 15 min im Ultraschallbad gelöst bzw. suspendiert. Unlösliche Anteile wurden abzentrifugiert. 1 ml des Überstandes wurde mit 1 ml internem Standard (6 ng Vanillin und 60 ng Phenol pro μ l Methanol) verdünnt, gut geschüttelt und durch einen Millex^R HV13-Filter gereinigt.

Probenvorbereitung für Phenoxyethanol, Parabene und halogenierte aromatische Verbindungen

1 g Kosmetikum wurde in einen verschliessbaren 25-ml-Erlenmyerkolben eingewogen und mit 10 ml 1% Ameisensäure in Methanol versetzt (bei Bestimmung der Wiederfindungsraten wurden 1,5 bzw. 3,0 mg Phenoxyethanol, 0,5 bzw. 1,0 mg Parabene und Triclosan, 0,25 bzw. 0,5 mg Triclocarban und 1,0 bzw. 2,0 mg der restlichen chlorierten Phenole zugesetzt). Die Probe wurde gut geschüttelt und ca. 15 min im Ultraschallbad gelöst bzw. suspendiert. Unlösliche Anteile wurden abzentrifugiert. 200 μ l des Überstandes wurden mit 2 ml internem Standard (40 ng 2,4-Dichlor-3,5-dimethylphenol pro μ l Methanol) verdünnt und durch einen Millex^R HV13-Filter gereinigt.

Bedingungen für Isothiazolinone

Gradientenprogramm: 0,0 min 10%A, 90%B \rightarrow lineare Veränderung \rightarrow 18,0 min 40%A, 60%B \rightarrow sofortige Veränderung (Spülen) \rightarrow 25,0 min 100%A, 0%B \rightarrow sofortige Veränderung (Neukonditionierung) \rightarrow 30,0 min 10%A, 90%B. Fluss: 1 ml/min. Injektionsvolumen: 10 μ l. Detektor: 280 nm.

Bedingungen für Phenoxyethanol, Parabene und halogenierte aromatische Verbindungen

Gradientenprogramm: 0,0 min 40%A, 60%B → lineare Veränderung → 8,0 min 53%A, 47%B → isokratisch → 22,0 min 53%A, 47%B → lineare Veränderung → 50,0 min 90%A, 10%B → isokratisch → 55,0 min 90%A, 10%B → sofortige Veränderung (Spülen) → 60,0 min 100%A, 0%B → sofortige Veränderung (Neukonditionierung) → 65,0 min 40%A, 60%B. Fluss: 1 ml/min. Injektionsvolumen: 10 µl. Detektor: 280 nm.

GC

Apparate und Reagenzien

Varian Vista 6000 mit ECD-Detektor und Helium als Trägergas. Kapillarsäule J & W, DB-5, P/N 123-5033, 30 m x 0,32 mm, Beschichtung 1 µm.

Millex^R HV13-Filter, 0,45 µm, 13 mm Filter unit, catalogue no. SJHV 013 NS (Millipore).

Ethylacetat (Merck Art. 9623), Natriumsulfat wasserfrei (Merck Art. 6649), Kieselgel-60 0,063–0,200 mm (Merck Art. 7734).

Probenvorbereitung für Isothiazolinone (nach (26))

2 g Kosmetikum und 2 ml Ethylacetat wurden gut geschüttelt. Danach wurde 1 Spatel (ca. 1 g) wasserfreies Natriumsulfat dazugegeben und wiederum geschüttelt. Der Überstand wurde durch einen Millex^R HV13-Filter gereinigt. 200 µl des filtrierten Überstandes wurden mit Ethylacetat auf 10 ml verdünnt.

Probenvorbereitung für Dibromdicyanobutan

5 g Kosmetikum wurden mit 10 g Kieselgel-60 vermischt. Die rieselfähige Masse wurde in eine kleine Chromatographiesäule eingefüllt und mit 50 ml Ethylacetat eluiert. Das Eluat wurde unverdünnt eingespritzt.

Bedingungen für Isothiazolinone

Injektortemperatur: 220 °C, Detektortemperatur: 300 °C. Ofentemperatur: 60 °C → (15 °/min) → 150 ° (7 min) → (15 °/min) → 250 °C. Injektionsvolumen: 1 µl splitless (30 s).

Bedingungen für Dibromdicyanobutan

Injektortemperatur: 220 °C, Detektortemperatur: 300 °C. Ofentemperatur: 60 °C → (15 °/min) → 130 °C → (5 °/min) → 150 °C (10 min) → (15 °/min) → 250 °C (4 min). Injektionsvolumen: 1 µl splitless (30 s).

HPLC-MS

Apparate und Reagenzien

Finnigan Mat TSQ 70 triple stage quadrupol Massenspektrometer mit Thermo-spray LC/MS-Interface, angeschlossen an das oben beschriebene HPLC-Gerät.

Säulen: s. unter HPLC.

Mobile Phase A: 90% Methanol (LiChrosolv gradient grade, Merck Art. 6007)/10% Wasser (LiChrosolv, Merck Art. 15333). Mobile Phase B: 10% Methanol/90% Wasser.

Probenvorbereitung für Parabene

Wie oben beschrieben für HPLC von Phenoxyethanol, Parabenen und halogenierten aromatischen Verbindungen.

Bedingungen für Parabene

Gradientenprogramm: wie oben beschrieben für HPLC von Phenoxyethanol, Parabenen und halogenierten aromatischen Verbindungen. Fluss: 1 ml/min. Injektionsvolumen: 10 µl. Vaporizertemperatur: 100 °C. Jettemperatur: 230 °C. Detektion: Full scan bzw. selected ion monitoring (SIM). 0,4 ml/min 0,05M Ammoniumacetat-Puffer.

Referenzsubstanzen

- Kathon CG mit Analysenzertifikat der Herstellerfirma Rohm & Haas France SA (0,39% Methylisothiazolinon, 1,15% Methylchlorisothiazolinon und 23,20% Stabilisator (Magnesiumchlorid und -nitrat) in Wasser) wurde uns freundlicherweise von der Firma Christ-Chemie AG, Aesch, zur Verfügung gestellt.
- Phenoxyethanol: Fluka Art. 77699 (2-Phenoxy-ethanol).
- Methylparaben: Fluka Art. 54750 (4-Hydroxy-benzoesäure-methylester).
- Ethylparaben: Fluka Art. 54660 (4-Hydroxy-benzoesäure-ethylester).
- iso-Propylparaben: K&K Laboratories Art. 201759 (Isopropyl-p-hydroxybenzoate).
- n-Propylparaben: Fluka Art. 54790 (4-Hydroxy-benzoesäure-propylester).
- iso-Butylparaben: K&K Laboratories Art. 202548 (Isobutyl-p-hydroxybenzoate).
- n-Butylparaben: Fluka Art. 54680 (4-Hydroxy-benzoesäure-butylester).
- Benzylparaben: Pfaltz & Bauer Art. B07345 (Benzyl-p-hydroxybenzoate).
- Chlorkresol: Fluka Art. 24940 (4-Chlor-m-kresol).
- Triclosan: Ciba-Geigy AG (Irgasan DP 300).
- Triclocarban: Aldrich Art. 10,593-7 (3,4,4'-Trichlordiphenylharnstoff).
- Bromchlorophen: Merck Art. 3281.
- Hexachlorophen: Aldrich Art. 23,458-3.

- Euxyl K 400 mit Analysenzertifikat der Herstellerfirma Schülke & Mayr GmbH (20,2% Dibromdicyanobutan in Phenoxyethanol) wurde uns freundlicherweise von der Firma Dolder AG, Basel, zur Verfügung gestellt.
- Dibromdicyanobutan wurde uns freundlicherweise von der Firma Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt (Deutschland), zur Verfügung gestellt.

Vorgehen und Resultate

Analyse von Isothiazolinonen (Kathon CG)

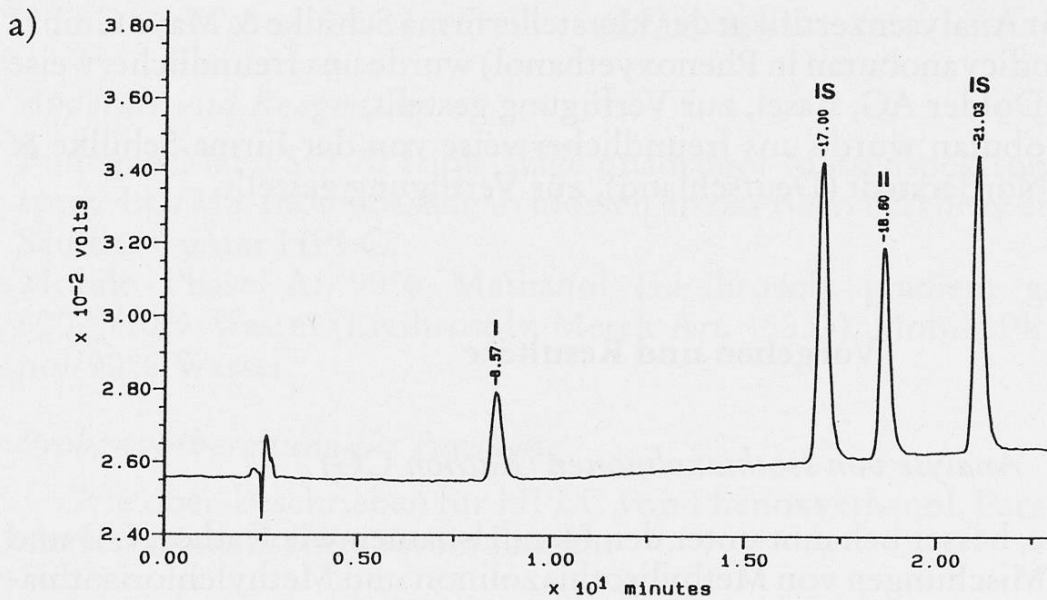
Isothiazolinone, besser bekannt unter den Handelsnamen wie Kathon CG und Euxyl K 100, sind Mischungen von Methylisothiazolinon und Methylchlorisothiazolinon. Sie werden in Duschmitteln und Schaumbädern mit einer erlaubten Höchstkonzentration von 25 mg/kg (2) angewandt. Der neue, rechtlich aber unverbindliche Grenzwert (1) liegt bei 15 mg/kg. Wegen dieser, gegenüber den anderen untersuchten Konservierungsmitteln bis zu 3 Zehnerpotenzen kleineren Einsatzkonzentration, musste diese wasserlösliche Verbindungsklasse speziell analysiert werden.

DC

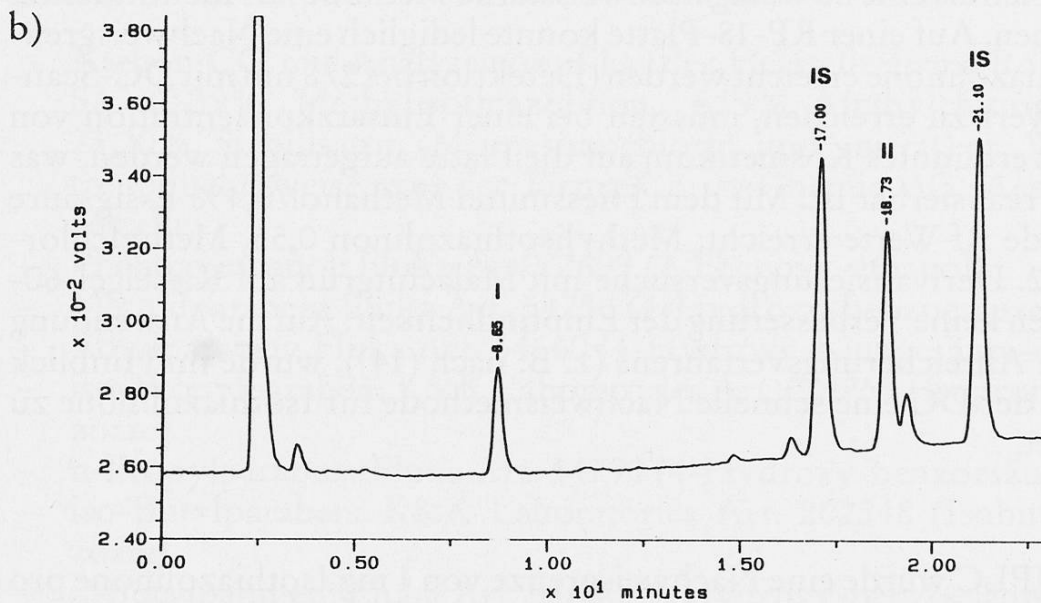
Die DC erwies sich als eine zu wenig nachweisstarke Methode zur Identifikation von Isothiazolinonen. Auf einer RP-18-Platte konnte lediglich eine Nachweisgrenze von 100 ng Isothiazolinone erreicht werden (Detektion bei 278 nm mit DC-Scanner). Um diesen Wert zu erreichen, müssten bei einer Einsatzkonzentration von 10 mg/kg 10 µl unverdünntes Kosmetikum auf die Platte aufgetragen werden, was in der Praxis nicht realisierbar ist. Mit dem Fliessmittel Methanol/0,4% Essigsäure 1:2 wurden folgende Rf-Werte erreicht: Methylisothiazolinon 0,55, Methylchlorisothiazolinon 0,42. Derivatisierungsversuche mit Malachitgrün auf Kieselgel-60-Platten (14) brachten keine Verbesserung der Empfindlichkeit. Auf die Anwendung eines aufwendigen Anreicherungsverfahrens (z. B. nach (14)), wurde im Hinblick auf unser Ziel, mit der DC eine schnelle Nachweismethode für Isothiazolinone zu besitzen, verzichtet.

HPLC

Mit Hilfe der HPLC wurde eine Nachweisgrenze von 1 mg Isothiazolinone pro kg Kosmetikum erreicht (entspricht 2,5 ng Isothiazolinone absolut), so dass die in Kosmetika übliche Anwendungskonzentration (unterer ppm-Bereich) problemlos nachgewiesen werden konnte (siehe Abb. 2). Die Kalibrierung erfolgte anhand eines externen Standards, einem Handelsmuster Kathon CG mit Analysenzertifikat (die Isothiazolinone sind als Einzelsubstanzen nicht erhältlich). Zusätzlich wurde ein interner Standard zur Probe gegeben (Gemisch von Phenol und Vanillin), um



a) Chromatogramm von Kathon CG (13 ng Methylisothiazolinon (I) und 37 ng Methylchlorisothiazolinon (II)) mit internen Standards (IS) Phenol (313 ng) und Vanillin (30 ng). Bedingungen: s. exp. Teil



b) Chromatogramm eines Duschmittels, welches mit 18,6 mg/kg Isothiazolinonen konserviert wurde

Abb. 2. HPLC von Kathon CG

in Zweifelsfällen die Peakzuordnung zu erleichtern. Die Eichkurven für Methylisothiazolinon und Methylchlorisothiazolinon waren im gemessenen Bereich von 5 ng bis 100 ng Isothiazolinone linear. Die Wiederfindungsraten aus den untersuchten Kosmetika lagen über 95%. Im Kathon CG, welches uns als Eichsubstanz zur Verfügung stand, betrug das Verhältnis Methylchlorisothiazolinon zu Methylisothiazolinon ungefähr 3:1. In einigen der untersuchten Handelsmuster war es allerdings kleiner. Dies kann an der geringeren Stabilität der Chlorverbindung liegen (26), möglicherweise wurde auch ein anderes Isothiazolinon-Handelsprodukt als Kathon CG eingesetzt.

GC

Als zweite unabhängige Methode zur Bestätigung der mittels HPLC erzielten Resultate wurde die GC mit ECD-Detektor angewandt. Die durch HPLC erzielten Resultate konnten semiquantitativ bestätigt werden. Die Nachweisgrenze für Methylchlorisothiazolinon betrug ca. 0,7 mg/kg Kosmetikum (ca. 7 pg Methylchlorisothiazolinon absolut). Ein quantitatives Verfahren wurde bisher nicht ausgearbeitet.

Analyse von Phenoxyethanol, Parabenen und halogenierten aromatischen Verbindungen

Unser Ziel bestand darin, alle folgenden Verbindungen in *einem* Chromatogramm zu trennen, zu identifizieren und zu quantifizieren. In Klammern sind jeweils die erlaubten Höchstkonzentrationen (2) für Duschmittel und Schaumbäder angegeben: Phenoxyethanol (1,0%); Parabene (Σ von Methyl-, Ethyl-, n-Propyl-, iso-Propyl-, n-Butyl- und iso-Butylparabenen: 0,8%; Benzylparaben: 0,1%); Chlorkresol (2,0%); Triclosan (2,0%); Triclocarban (2,0%); Bromchlorophen (2,0%); Hexachlorophen (1,0%; nach (1): gestrichen).

DC

Als Screeningmethode zur schnellen Identifikation der erwähnten Verbindungen wurde die DC angewandt. Für die gebräuchlichen Anwendungskonzentrationen von ca. 0,1% konnte diese problemlos verwendet werden. Eine Nachweisgrenze wurde deshalb nicht bestimmt. Als Referenz wurde jeweils 1 μ g Substanz aufgetragen (Ausnahmen: Parabene 0,4 μ g, Triclocarban 0,1 μ g). Die Rf-Werte für die verwendeten Fließmittel I–III sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Werte für iso-Propylparaben entsprachen ungefähr denjenigen für n-Propylparaben, diejenigen für iso-Butyl- und Benzylparaben denjenigen für n-Butylparaben. Sie werden deshalb nicht speziell aufgeführt. Fließmittel I zeigte sich am besten geeignet, um alle untersuchten Verbindungen in einem Chromatogramm zu trennen. Fließmittel II eignete sich speziell für die Unterscheidung von Methylparaben und Bromchlorophen, Fließmittel III für die Unterscheidung von Hexachlorophen und Propylparaben. Die für die halogenierten Phenole getroffenen Zuordnungen konnten

Tabelle 2. DC von Phenoxyethanol, Parabenen und halogenierten aromatischen Verbindungen auf RP-18-Platten: Rf-Werte bei Verwendung der Fließmittel I (Methanol/1,25% Ammoniak/Wasser 60:5:35), II (Methanol/0,63% Ammoniak/Wasser 60:5:35) und III (Methanol/Essigsäure/Wasser 60:10:30)

	I	II	III
Phenoxyethanol	0,59	0,62	0,77
Methylparaben	0,76	0,60	0,77
Ethylparaben	0,70	0,54	0,72
n-Propylparaben	0,62	0,46	0,66
n-Butylparaben	0,52	0,37	0,58
Chlorkresol	0,48	0,47	0,68
Triclosan	0,33	0,22	0,43
Triclocarban	0,14	0,19	0,40
Bromchlorophen	0,79	0,44	0,30
Hexachlorophen	0,65	0,46	0,22

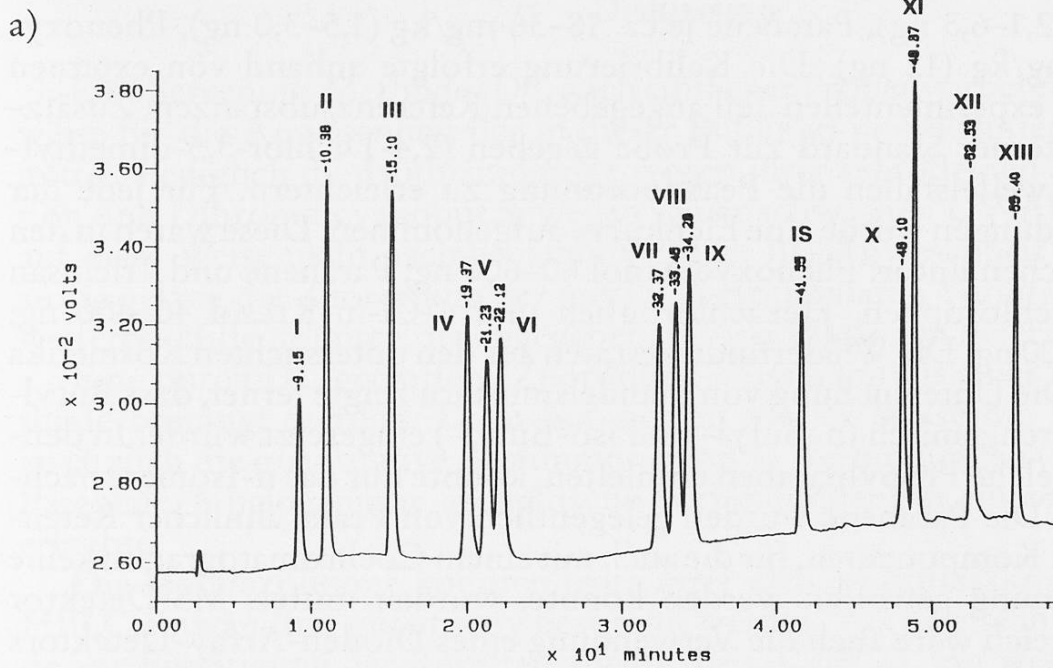
zusätzlich durch Farbreaktionen mit den Derivatisierungsreagenzien A und B (25) bestätigt werden (siehe Tabelle 3). Auf Kieselgel-60-Platten konnte auch das Derivatisierungsreagenz B verwendet werden, welches auf den normalerweise verwendeten RP-18-Platten keine deutliche Farbreaktion erzeugte. Weitere Beispiele für Farbreaktionen finden sich in der Literatur (16–19).

Tabelle 3. Farbreaktionen von halogenierten Phenolen mit den Derivatisierungsreagenzien A (2,2'-Bipyridin-eisen (III)-chlorid) und B (Blei (IV)-acetat-2',7'-dichlorfluorescein) auf verschiedenen DC-Platten

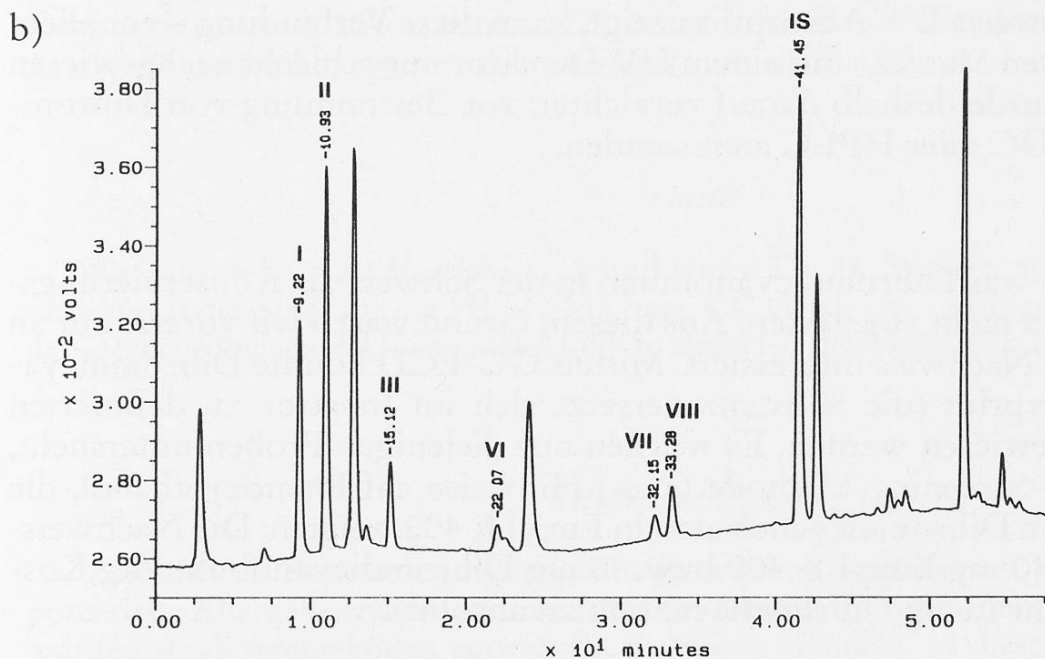
	Kieselgel-60-Platte		RP-18-Platte	
	A	B	A	B
Chlorkresol	hellrosa	gelb	schwach rosa	–
Triclosan	rotrosa	gelb	hellrot	–
Bromchlorophen	violettrosa	orange-gelb	violettblau	–
Hexachlorophen	rot	gelb	schwarzblau	–

HPLC

Zur Verifizierung der mittels DC getroffenen Zuordnungen und für quantitative Bestimmungen wurde die HPLC angewandt. Alle 13 der erwähnten aromatischen Konservierungsstoffe konnten in *einem* Chromatogramm getrennt und quantitativ bestimmt werden (siehe Abb. 3). Unter den angegebenen Bedingungen wurden folgende Nachweisgrenzen erreicht: Triclocarban ca. 8 mg/kg Kosmetikum (entspricht 0,7 ng Triclocarban absolut), restliche chlorierte aromatische Verbindungen



a) Chromatogramm von 303 ng Phenoxyethanol (I), 97 ng Methylparaben (II), 102 ng Ethylparaben (III), 104 ng iso-Propylparaben (IV), 213 ng Chlorkresol (V), 103 ng n-Propylparaben (VI), 110 ng iso-Butylparaben (VII), 113 ng n-Butylparaben (VIII), 113 ng Benzylparaben (IX), 103 ng Triclosan (X), 53 ng Triclocarban (XI), 197 ng Bromchlorophen (XII) und 201 ng Hexachlorophen (XIII) mit internem Standard (IS), 2,4-Dichlor-3,5-dimethylphenol (202 ng). Bedingungen: s. exp. Teil



b) Chromatogramm eines Duschmittels, welches mit Phenoxyethanol (0,5%) und Parabenen ($\Sigma = 0,2\%$) konserviert wurde

Abb. 3. HPLC von Phenoxyethanol, Parabenen und halogenierten aromatischen Verbindungen

ca. 25–76 mg/kg (2,1–6,3 ng), Parabene je ca. 18–36 mg/kg (1,5–3,0 ng), Phenoxyethanol ca. 144 mg/kg (12 ng). Die Kalibrierung erfolgte anhand von externen Standards, den im experimentellen Teil angegebenen Referenzsubstanzen. Zusätzlich wurde ein interner Standard zur Probe gegeben (2,4-Dichlor-3,5-dimethylphenol), um in Zweifelsfällen die Peakzuordnung zu erleichtern. Für jede der erwähnten Verbindungen wurde eine Eichkurve aufgenommen. Diese waren in den gemessenen Bereichen linear: Phenoxyethanol 60–600 ng; Parabene und Triclosan 20–200 ng; Bromchlorophen, Hexachlorophen und 4-Cl-m-Kresol 40–400 ng; Triclocarban 10–100 ng. Die Wiederfindungsraten aus den untersuchten Kosmetika lagen über 98%. Die Untersuchung von Handelsmustern zeigte ferner, dass Butylparaben als Isomerengemisch (n-Butyl- und iso-Butyl-) eingesetzt wurde. In denjenigen Proben, welche Propylparaben enthielten, konnte nur das n-Isomere nachgewiesen werden. Die Parabene wurden gelegentlich von Peaks ähnlicher Retentionszeit begleitet. Komponenten, für die auch mit einem Chromatogramm keine eindeutige Zuordnung getroffen werden konnte, wurden mittels MS-Detektor identifiziert. Hilfreich wäre auch die Verwendung eines Dioden-Array-Detektors gewesen.

Analyse von Dibromdicyanobutan (Euxyl K 400)

Dibromdicyanobutan wird meist in der Handelsform Euxyl K 400 (ca. 20% Dibromdicyanobutan in Phenoxyethanol) vertrieben. Da Dibromdicyanobutan in einer Konzentration von lediglich 0,02% (200 mg/kg Kosmetikum) eingesetzt wird und keine nennenswerte UV-Absorption zeigt, kann diese Verbindung – vor allem in einer unbekannt Matrix – mit einem UV-Detektor nur schlecht nachgewiesen werden (23). Es wurde deshalb darauf verzichtet, zur Bestimmung von Dibromdicyanobutan die DC oder HPLC anzuwenden.

GC

Bis vor kurzem war Dibromdicyanobutan in der Schweiz als Konservierungsmittel in Kosmetika nicht zugelassen. Aus diesem Grund waren wir vorerst nur an einem qualitativen Nachweis interessiert. Mittels GC-ECD konnte Dibromdicyanobutan als Fingerprint (die Substanz zersetzt sich im Injektor zu definierten Produkten) nachgewiesen werden. Es wurden nur diejenigen Proben untersucht, welche in der DC-Screening-Methode (s. o.) Hinweise auf Phenoxyethanol, die Begleitsubstanz von Dibromdicyanobutan in Euxyl K 400, zeigten. Die Nachweisgrenze betrug ca. 80 mg Euxyl K 400 bzw. 16 mg Dibromdicyanobutan/kg Kosmetikum (entspricht 1,6 ng Dibromdicyanobutan absolut).

Diskussion

Eine Screening-Methode (DC nach einfacher Probenvorbereitung) lieferte Hinweise für die Anwesenheit der in dieser Publikation erwähnten Konservierungsmittel. Lediglich die Isothiazolinone wegen ihrer sehr kleinen Einsatzkonzentration und Dibromdicyanobutan wegen seiner schwachen UV-Absorption konnten auf diese Weise nicht nachgewiesen werden. Bei Anwesenheit störender Begleitstoffe gelang die Zuordnung der mit DC bestimmbaren Verbindungen nicht ohne weiteres. Hilfe konnten die angegebenen Farbreaktionen liefern.

Eine durch DC getroffene Zuordnung musste mittels einer unabhängigen Methode bestätigt werden. Dazu bot sich in idealer Weise die HPLC an, welche zusätzlich die quantitative Bestimmung von 13 Verbindungen (Phenoxyethanol, 6 Parabene, 6 halogenierte aromatische Verbindungen) in *einem* Chromatogramm erlaubte.

Die Isothiazolinone konnten trotz ihrer kleinen Einsatzkonzentration mittels HPLC einwandfrei quantitativ bestimmt werden. Als zweite unabhängige Methode zur Bestätigung der Resultate diente die GC-ECD, mit welcher Methylchlorisothiazolinon semiquantitativ nachgewiesen werden konnte. Die Ausarbeitung eines quantitativen Verfahrens ist geplant.

Wegen seiner schwachen UV-Absorption konnte Dibromdicyanobutan auch mit HPLC nicht bestimmt werden. Eine Möglichkeit zur qualitativen Bestimmung bestand in der GC-ECD. Obwohl sich die Substanz im Injektor zersetzte, konnten die entstehenden Spaltprodukte als «Fingerprint» identifiziert werden. In Anbetracht der in der Schweiz neuerdings erlaubten Verwendung dieses Stoffes zur Konservierung von Kosmetika (27) muss in Zukunft allerdings eine quantitative Analysenmethode angewendet werden (z. B. nach (28)).

Dank

Wir danken Frau A. Maschka-Selig und Herrn Dr. M. Niederer vom Kantonalen Laboratorium Basel-Stadt für die HPLC-MS bzw. GC-Analysen und Herrn Dr. A. Bircher von der Dermatologischen Universitätsklinik in Basel für die wertvollen Literaturhinweise.

Zusammenfassung

Viele der als Konservierungsmittel in Kosmetika zugelassenen Verbindungen sind als potentielle Allergene erkannt worden. Auf der Grundlage von bereits publizierten Arbeiten wurden Analysenmethoden entwickelt, welche es erlauben, 15 dieser Stoffe (Kathon CG, Phenoxyethanol, 6 Parabene, 6 halogenierte aromatische Verbindungen, Euxyl K 400) in Duschmitteln und Schaumbädern zu bestimmen. 13 davon konnten durch eine Screening-Methode (DC) identifiziert und mittels HPLC in *einem* Chromatogramm bestätigt und quantifiziert werden. Kathon CG wurde mit HPLC identifiziert und quantifiziert sowie mit GC bestätigt. Euxyl K 400 wurde nur mit GC und lediglich qualitativ nachgewiesen.

Résumé

Beaucoup de composés qui sont autorisés comme agents conservateurs dans les produits cosmétiques se sont révélés être des allergènes potentiels. Sur la base de travaux publiés, des méthodes analytiques pour la détermination de 15 de ces composés (Kathon CG, phénoxyéthanol, 6 parabènes, 6 composés aromatiques halogénés, Euxyl K 400) ont été développées pour les préparations pour douches et bains. 13 d'entre eux ont été déterminés par une méthode de screening (CCM). La confirmation et la quantification de ces 13 agents conservateurs ont pu être réalisées au moyen d'un seul chromatogramme HPLC. Le Kathon CG a été identifié et quantifié par HPLC et confirmé par CPG. L'Euxyl K 400 a été déterminé par CPG, mais qualitativement seulement.

Summary

Many of the compounds which are permitted as preservatives in cosmetics have been recognized as potential allergens. On the basis of already published work, analytical methods have been developed to determine 15 of these compounds (Kathon CG, phenoxyethanol, 6 parabens, 6 halogenated aromatic compounds, Euxyl K 400) in body shampoos and bubble baths. 13 of them could be identified by a screening method (TLC). Verification and quantification of these 13 preservatives were performed by HPLC in a single chromatogram. Kathon CG could be identified and quantified by HPLC as well as verified by GC. Euxyl K 400 was determined qualitatively only by GC.

Literatur

1. Bundesamt für Gesundheitswesen: Bemerkungen zur Ergänzungsliste der «Liste der pharmakologisch wirksamen, zur Herstellung von kosmetischen Mitteln zulässigen Stoffe» der Verfügung des EDI (Positiv-Liste) (Kreisschreiben Nr. 18 vom 23. Dezember 1988).
2. Liste der pharmakologisch wirksamen, für die Herstellung von kosmetischen Mitteln zulässigen Stoffe (Stand 1. Januar 1981) der Verfügung des Eidg. Departementes des Innern über kosmetische Mittel vom 7. Dezember 1967 (Stand am 1. Januar 1990).
3. Kantonales Laboratorium Basel-Stadt: Jahresbericht 1991.
4. Bundesamt für Gesundheitswesen: Deklaration von Kosmetika-Inhaltsstoffen: Isothiazolin-Derivate (z. B. Kathon CG, Euxyl K 100) (Schreiben vom 1. November 1988 an die interessierten Kreise).
5. Hunziker, N., Pasche F., Bruckner-Tuderman, L., Perrenoud, D., Ruffli, R., Bircher, A., Suter, H. and Thürliman, W.: Sensitization to Kathon CG in Switzerland: Report of the Swiss contact dermatitis research group. In: Frosch, P.J., Dooms-Goossens, A., Lachapelle, J.-M., Rycroft, R.J.G. and Scheper, R.J. (eds). Current topics in contact dermatitis, pp. 115–120. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1989.
6. Lahl, U. und Zeschmar-Lahl, B.: Isothiazolinone als Konservierungsmittel (Zur Frage der Unbedenklichkeit von Isothiazolinonen als Konservierungsstoffe in Kosmetika und Haushaltreinigern). Tenside Surf. Det. 27, 316–317 (1990).
7. Zahejsky, J., Janes, K. und Dastychova, E.: Die Diagnostik von Kontaktüberempfindlichkeit auf Konservierungsmittel auf Basis von Isothiazolin-3-on bei Ekzematikern. Parf. Kosmetik 72, 178–181 (1991).

8. *de Groot, A.C.*: Adverse reactions to cosmetics. Thesis, State University of Groningen, 83–93, published by the autor 1988.
9. *Tronnier, H.*: Dermatologische Erfahrungen mit Konservierungsmitteln. Konservierung kosmetischer Mittel. Kreuznacher Symposium 1986 der Deutschen Gesellschaft der Kosmetik-Chemiker e.V., 79–87. Verlag für Chemische Industrie H. Ziolkowsky KG, Augsburg 1987.
10. *Singh-Verma, S.B.*: Praxiserfahrung in der Konservierung kosmetischer Mittel, *Ibd.*, 89–116.
11. *Nater, J.P., de Groot, A.C. and Liem, D.H.*: Unwanted effects of cosmetics and drugs used in dermatology, second edition. Elsevier, Amsterdam 1985.
12. *Tosti, A., Guerra, L., Bardazzi F. and Gasparri, F.*: Euxyl K 400: a new sensitizer in cosmetics. *Contact dermatitis* **25**, 89–93 (1991).
13. *Keilig, W.*: Kontaktallergie auf einen neuen Konservierungsstoff (Euxyl K 400). *Parf. Kosmetik* **72**, 167–168 (1991).
14. *Matissek, R.*: Konservierungsstoffe auf Basis von Methylisothiazolonen in kosmetischen Mitteln – Grundlagen und Analytik. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch* **183**, 273–289 (1986).
15. *Matissek, R.*: Analysis of preservatives in cosmetics – methylisothiazolones. *Chromatographia* **28**, 34–38 (1989).
16. *de Kruijf, N., Rijk, M.A.H., Pranoto-Soetardhi, L.A. and Schouten, A.*: Determination of preservatives in cosmetic products. I. Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products. *J. Chromatogr.* **410**, 395–411 (1987).
17. *Richard, G., Gataud, P., Arnaud, J.C. and Boré, P.*: Qualitative analysis of preservatives using high-performance thin-layer chromatography. *Cosmet. Sci. Technol. Ser.* **4**, 157–222 (1985).
18. *Schmahl, H.-J. und Hieke, E.*: Trennung und Identifizierung verschiedener auch in Kosmetika verwendeter antimikrobieller Stoffe mittels Dünnschicht-Chromatographie. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **304**, 398–404 (1980).
19. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 53, 17–19 (1984).
20. *Maeda, Y., Yamamoto, M., Owada, K., Sato, S., Masui, T., Nakazawa, H. and Fujita, M.*: High-performance liquid chromatographic determination of six p-hydroxybenzoic acid esters in cosmetics using sep-pack florosil cartridges for sample pre-treatment. *J. Chromatogr.* **410**, 413–418 (1987).
21. *de Kruijf, N., Schouten, A., Rijk, M.A.H. and Pranoto-Soetardhi, L.A.*: Determination of preservatives in cosmetic products. II. High-performance liquid chromatographic identification. *J. Chromatogr.* **469**, 317–328 (1989).
22. *Gagliardi, L., Cavazzutti, G., Turchetto, L., Manna, F. and Tonelli, D.*: Determination of preservatives in cosmetic products by reversed-phase high-performance liquid chromatography. IV. *J. Chromatogr.* **508**, 252–258 (1990).
23. *Schweitzer, K.D. und Stanzl, K.*: Quantitative Bestimmung von Euxyl K 400 und 4-Hydroxybenzoesäureestern in einer Hautcreme mittels HPLC nebeneinander. *Seifen-Öle-Fette-Wachse* **114**, 537–542 (1988).
24. *de Kruijf N. and Schouten, A.*: Identification and determination of antimicrobial agents. *Parf. Kosmetik* **72**, 386–398 (1991).
25. *Jork, H., Funk, W., Fischer, W. und Wimmer, H.*: Dünnschicht-Chromatographie: Reagenzien und Nachweismethoden, Band 1a. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1990.
26. Kathon CG microbicide, technical bulletin SC-465-ER/0487. Rohm & Haas company 1987.

27. Bundesamt für Gesundheitswesen: Mitteilung an die Kantonalen Laboratorien und Lebensmittelinspektorate vom 5. Juli 1991.
28. *Streek, M.*: Analytik von Konservierungsmitteln. *Parf. Kosmetik* 71, 136–140 (1990) und darin zitierte Literatur.

Dr. Ch. Bürgi
Kantonales Laboratorium
Basel-Stadt
Postfach
CH-4012 Basel