

DIN EN 16274

ICS 71.100.60

**Analyseverfahren für Allergene –
Quantifizierung von mutmaßlichen Allergie auslösenden Duftstoffen in
Verbrauchsgütern –
Stufe 1: GC-Analyse von einspritzfertigen Proben;
Deutsche Fassung EN 16274:2012**

Methods for analysis of allergens –
Quantification of suspected fragrance allergens in consumer products –
Step 1: GC analysis of ready-to-inject sample;
German version EN 16274:2012

Méthode d'analyse des allergènes –
Quantification des fragrances allergènes suspectées dans les produits de
consommation –
Étape 1: Analyse par GC d'échantillons prêts à être injectés;
Version allemande EN 16274:2012

Gesamtumfang 26 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 16274:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 347 „Analyseverfahren für Allergene“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DS (Dänemark) gehalten wird.

Im DIN Deutsches Institut für Normung e. V. ist im Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) hierfür der NA 057-07-01 AA „Kosmetische Mittel“ zuständig.

Zur Verbesserung der Lesbarkeit gegenüber der englischen Referenzfassung wurde in den Unterabschnitten 6.1 (Allgemeines) und 6.3.3 (SIM-Modus) sowie in der Tabelle 2 (Liste der Ionen für die Quantifizierung) „I1“, „I2“ und „I3“ in „i1“, „i2“ und „i3“ sowie im vollständigen Unterabschnitt 8.2 (Quantifizierung der Allergene) „Ix“ in „ix“ geändert.

Deutsche Fassung

Analyseverfahren für Allergene - Quantifizierung von
mutmaßlichen Allergie auslösenden Duftstoffen in
Verbrauchsgütern - Stufe 1: GC-Analyse von einspritzfertigen
Proben

Methods for analysis of allergens - Quantification of
suspected fragrance allergens in consumer products - Step
1: GC analysis of ready-to-inject sample

Méthodes d'analyse des allergènes - Quantification des
fragrances allergènes suspectées dans les produits de
consommation - Étape 1 : Analyse par GC d'échantillons
prêts à être injectés

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 4. August 2012 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN-CENELEC oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Kurzbeschreibung	5
3 Reagenzien	5
4 Geräte.....	7
5 Vorbereitung und Konservierung der Standards	8
5.1 Allgemeines	8
5.2 Herstellung der Standards	8
5.2.1 Allgemeines	8
5.2.2 Stammlösung aller Allergene (5 g/l).....	9
5.2.3 Einzelne Stammlösungen (Carbonylverbindungen/nicht carbonylhaltige Verbindungen) (10 g/l)	9
5.2.4 Lösung des internen Standards	9
5.2.5 Arbeitslösungen.....	9
5.2.6 Kalibrierlösung.....	9
6 Durchführung	10
6.1 Allgemeines	10
6.2 Chromatographische Bedingungen.....	10
6.3 Bedingungen für die MS	10
6.3.1 Allgemeines	10
6.3.2 SCAN-Modus	11
6.3.3 SIM-Modus	11
6.4 Kalibrierung	13
7 Probenanalyse	14
8 Datenaufbereitung und Berechnung der Ergebnisse	14
8.1 Identifizierung der Allergene	14
8.2 Quantifizierung der Allergene	14
8.3 Beurteilung der analytischen Messung.....	15
8.3.1 Allgemeines	15
8.3.2 Untersuchung der Q -Werte	16
8.3.3 Maximal zulässige Abweichungen.....	16
9 Prüfbericht.....	17
Anhang A (informativ) Trennleistungen von Säulen	18
Anhang B (informativ) SIM-Fenster	20
Anhang C (informativ) Beispiel für eine chromatographische Trennung	21
Anhang D (normativ) Entscheidungsbaum	23
Literaturhinweise	24

Vorwort

Dieses Dokument (EN 16274:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 347 „Analyseverfahren für Allergene“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DS gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis März 2013, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis März 2013 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Einleitung

Die menschliche Haut kann durch verschiedene Quellen, wie z. B. Waschmittel und kosmetische Mittel, die abgewaschen werden oder auf der Haut verbleiben sollen, mutmaßlichen Allergie auslösenden Duftstoffen ausgesetzt sein. Aufgrund ihrer möglichen Wirkung wurde die Verwendung von 26 Duftstoffen durch Richtlinien des Rates in Verbindung mit Kennzeichnungsanforderungen eingeschränkt, um ein hohes Schutzniveau für die Verbraucher, insbesondere empfindliche Bevölkerungsgruppen, sicherzustellen.

In diesem Zusammenhang wurden mehrere Analyseverfahren zum Nachweis und zur Bestimmung des Vorliegens dieser Duftstoffe in kosmetischen Mitteln entwickelt, wie z. B. Gaschromatographie/Flammenionisationsdetektion (GC-FID), Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC-MS), umfassende GC (comprehensive GC) oder MS-MS an Ausgangsstoffen und Endprodukten.

Bei dem vorliegenden Analyseverfahren wird GC-MS in Verbindung mit zwei GC-Säulen unterschiedlicher Polarität und einem zugeordneten Verfahren zur Quantifizierung angewendet [1]. Das ermöglicht die Trennung und Quantifizierung der 24 flüchtigen mutmaßlichen Allergene beim Vorliegen von jeweils mehr als 0,001 % (10 mg/kg) in einspritzfertigen Proben von Kosmetikbestandteilen oder Produktmatrices. Das vorliegende Protokoll wurde dank eines Ringversuches bestätigt [2].

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm beschreibt ein Verfahren zur Identifizierung und Bestimmung von 24 flüchtigen mutmaßlichen Allergenen in einspritzfertigen kosmetischen Mitteln und Ausgangsstoffen, die in kosmetischen Produkten verwendet werden und die für die GC-Analyse geeignet sind. Bei dieser Analyse wird nach der Probenvorbereitung GC-MS angewendet. Die Verwendung der 24 mutmaßlichen Allergene wird durch Richtlinien des Rates (7. Änderung zur Kosmetik-Richtlinie 2003/15/EG) eingeschränkt.

Das Verfahren, das in dieser Europäischen Norm beschrieben wird, enthält keine Anforderungen an die Herstellung von Proben in Matrices, bei denen ein direktes Einspritzen in den GC nicht durchführbar ist.

2 Kurzbeschreibung

Das Verfahren, das in dieser Europäischen Norm beschrieben wird, stellt eine umfassende Analyse von 24 flüchtigen mutmaßlichen Allergenen durch Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie nach der Verdünnung der Probe in einem inerten Lösemittel dar.

Zur chromatographischen Trennung der 24 mutmaßlichen Allergene werden zwei Bestimmungen mit zwei GC-Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität durchgeführt. Eine Identifizierung der mutmaßlichen Allergene erfolgt, wenn möglich, unter Anwendung von GC-MS im Abtastmodus. Die Quantifizierung erfolgt durch Einzelionennachweis (SIM) unter Verwendung von 1,4-Dibrombenzen und 4,4'-Dibrombiphenyl als interne Standards.

Das Endergebnis hängt von der Übereinstimmung der verschiedenen Ionenverhältnisse ab, die entsprechend den spezifischen Anforderungen für die beiden Injektionen erhalten werden.

3 Reagenzien

Sofern nicht anders angegeben, sind nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit zu verwenden. Die Lösemittel müssen eine für die GC-MS geeignete Reinheit aufweisen.

3.1 Lösemittel

3.1.1 Methylpivalat, CAS-Nr: [598-98-1], analysenrein oder besser.

3.1.2 2-Fluortoluen (o-Fluortoluen), CAS-Nr: [95-52-3], analysenrein oder besser.

3.1.3 Aceton, CAS-Nr: [67-64-1], analysenrein oder besser.

WICHTIG — Wenn andere Lösemittel verwendet werden, muss nachgewiesen sein, dass sie nicht mit den Analyten reagieren (diesbezüglich inert sind). Auf jeden Fall muss das gleiche Lösemittel für die Kalibrierung und die Bestimmung verwendet werden.

3.2 Standards von (mutmaßlich allergenen) Duftstoffen

3.2.1 Amylzimtalkohol, CAS-Nr: [101-85-9], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere.

3.2.2 Amylzimtaldehyd (Flosal®), CAS-Nr: [122-40-7], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere.

3.2.3 Anisylalkohol, CAS-Nr: [105-13-5], von bekannter Reinheit.

3.2.4 Benzylalkohol, CAS-Nr: [100-51-6], von bekannter Reinheit.

3.2.5 Benzylbenzoat, CAS-Nr: [120-51-4], von bekannter Reinheit.

3.2.6 Benzylcinnamat, CAS-Nr: [103-41-3], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere.

3.2.7 Benzylsalicylat, CAS-Nr: [118-58-1], von bekannter Reinheit.

3.2.8 2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial®), CAS-Nr: [80-54-6], von bekannter Reinheit.

3.2.9 Zimtalkohol, CAS-Nr: [104-54-1], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere.

3.2.10 Zimtaldehyd, CAS-Nr: [104-55-2], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere.

3.2.11 Citral, CAS-Nr: [5392-40-5], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Zwei Isomere, Neral und Geranial, die getrennt bestimmt werden.

3.2.12 Citronellol, CAS-Nr: [106-22-9], von bekannter Reinheit.

3.2.13 Cumarin, CAS-Nr: [91-64-5], von bekannter Reinheit.

3.2.14 Eugenol, CAS-Nr: [97-53-0], von bekannter Reinheit.

3.2.15 Farnesol, CAS-Nr: [4602-84-0], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise vier Isomere. Die beiden Hauptisomere sind (E,E)-Farnesol (CAS-Nr [106-28-5]) und (Z,E)-Farnesol (CAS-Nr [3790-71-4]).

3.2.16 Geraniol, CAS-Nr: [106-24-1], von bekannter Reinheit.

3.2.17 Hexylzimtaldehyd (Jasmonal®), CAS-Nr: [101-86-0] von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Mindestens zwei Isomere.

3.2.18 Hydroxycitronellal, CAS-Nr: [107-75-5], von bekannter Reinheit.

3.2.19 Hydroxymethylpentylcyclohexencarboxaldehyd (Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd) (**Lyrat®**), CAS-Nr: [31906-04-4], von bekannter Reinheit.

WARNUNG — Dieser Duftstoff-Standard enthält auch Hydroxyisohexyl-4-cyclohexencarboxaldehyd, das nicht quantifiziert werden darf.

3.2.20 Isoeugenol, CAS-Nr: [97-54-1], von bekannter Reinheit.

ANMERKUNG Möglicherweise zwei Isomere (cis, trans).

3.2.21 α -Isomethyl-Ionon, CAS-Nr: [127-51-5], von bekannter Reinheit.

3.2.22 Limonen, CAS-Nr: [5989-27-5], von bekannter Reinheit.

3.2.23 Linalool, CAS-Nr: [78-70-6], von bekannter Reinheit.

3.2.24 Methylheptincarbonat (Folione®), CAS-Nr: [111-12-6], von bekannter Reinheit.

3.3 Interne Standards (ISTD)

3.3.1 1,4-Dibrombenzen, analysenrein oder besser.

3.3.2 4,4'-Dibrombiphenyl, analysenrein oder besser.