

DIN EN 17156

ICS 71.100.70

Einsprüche bis 2017-10-18

Entwurf

**Kosmetische Mittel –
Untersuchungsverfahren –
LC/UV-Verfahren für die Identifizierung und quantitative Bestimmung von
den 22 in der EU verwendeten organischen UV-Filtern in kosmetischen
Produkten;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17156:2017**

Cosmetics –
Analytical methods –
LC/UV method for the identification and quantitative determination in cosmetic products of
the 22 organic UV filters in use in the EU;
German and English version prEN 17156:2017

Cosmétiques –
Méthodes analytiques –
Procédé LC/UV pour l'identification et la détermination quantitative des produits
cosmétiques des 22 filtres UV organiques en cours d'utilisation dans l'UE;
Version allemande et anglaise prEN 17156:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-08-18 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-
Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de,
sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im
Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-
Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL),
10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 61 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17156:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 392 „Kosmetische Mittel“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-07-01 AA „Kosmetische Mittel“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Kosmetische Mittel — Untersuchungsverfahren — LC/UV-Verfahren für die Identifizierung und quantitative Bestimmung von den 22 in der EU verwendeten organischen UV-Filtern in kosmetischen Produkten

Cosmétiques — Méthodes analytiques — Procédé LC/UV pour l'identification et la détermination quantitative des produits cosmétiques des 22 filtres UV organiques en cours d'utilisation dans l'UE

Cosmetics — Analytical methods — LC/UV method for the identification and quantitative determination in cosmetic products of the 22 organic UV filters in use in the EU

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	6
2 Grundsätze	6
3 Reagenzien	6
4 Geräte und Hilfsmittel	9
5 Durchführung	9
5.1 Probenvorbereitung	9
5.2 LC-UV/Vis-Messbedingungen	10
6 Bewertung	13
6.1 Identifizierung	13
6.2 Quantitative Bestimmung	13
7 Untersuchungsbericht	14
Anhang A (informativ) Ergebnisse der laborinternen Validierung	15
A.1 Allgemeines	15
A.2 Wasserlösliche UV-Filter	15
A.3 Gruppe der fettlöslichen UV-Filter	18
A.4 UV-Filter P15	22
Anhang B (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	24
B.1 Allgemeines	24
B.2 Ringversuch für wasserlösliche UV-Filter	24
B.3 Ringversuch für fettlösliche UV-Filter	25
B.4 Ringversuch für P15-UV-Filter	28
Literaturhinweise	29

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17156:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 392 „Kosmetische Mittel“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Einleitung

Es ist allgemein bekannt, dass in den letzten Jahrzehnten die UV-Strahlung progressiv zugenommen hat, die aufgrund der geschädigten stratosphärischen Ozonschicht die Erdoberfläche erreicht. Um die menschliche Haut von dieser gesundheitsschädlichen Sonneneinstrahlung zu schützen, werden so genannte UV-Filter als aktive Bestandteile in der Rezeptur von kosmetischen Sonnenschutzmitteln verwendet. Diese aktiven Verbindungen sind organischer oder anorganischer Natur und haben die Fähigkeit, diese UV-Strahlung zu absorbieren und/oder zu reflektieren. Heutzutage werden sie nicht nur jenen speziell für den Sonnenschutz vorgesehenen kosmetischen Mitteln beigelegt, sondern befinden sich auch in allen Arten von Produkten des täglichen Gebrauchs wie Feuchtigkeitscremes, Aftershave-Produkten, Anti-Aging-Cremes, Make-up-Produkten usw.

Es sollte berücksichtigt werden, dass einige dermatologische Nebenwirkungen auf Verbindungen zurückzuführen sind, die als UV-Filter verwendet werden. In diesem Sinne werden die Verbindungen, die als UV-Filter in kosmetischen Mitteln eingesetzt werden können, und ihre maximal zulässigen Konzentrationen reguliert. Die Verordnung 1223/2009 der Europäischen Union (EU) erlaubt ausdrücklich die Verwendung von 26 Verbindungen als UV-Filter [1], deren Namen in Tabelle 1 aufgelistet sind. Unter diesen 26 UV-Filter ist Titandioxid anorganisch und unter den verbleibenden 25 sind 7 hochpolar und können der „wasserlöslichen“ Gruppe zugeordnet werden, wohingegen die anderen 18 gering polar sind und der „fettlöslichen“ Gruppe zugeordnet werden können. Derzeit sind alle diese Verbindungen in den Rezepturen der verschiedenen im EU-Rahmen verwendeten kosmetischen Produkte enthalten; ausgenommen sind lediglich BCSA, PBC und 3BC, die durch Patente geschützt sind und nicht mehr in kosmetischen Mitteln verwendet werden.

Daneben können Fehler während des Herstellungsverfahrens von kosmetischen Mitteln eine niedrigere als die formulierte Konzentration im Endprodukt verursachen. Dies könnte die Wirksamkeit des Produkts beeinträchtigen, da der Sonnenschutzfaktor in Wirklichkeit niedriger sein könnte als angegeben und somit die Sicherheit der Verbraucher gefährdet wäre.

Aus diesem Grund sind zuverlässige und praktische Analyseverfahren erforderlich, um die Einhaltung der EU-Verordnung und somit den Schutz des Verbrauchers und die Wirksamkeit des Produkts sicherzustellen. Es gibt jedoch nur eine Norm und zwar 16344:2013 [2], die sich mit der Bestimmung dieser Verbindungen beschäftigt und die nur die quantitative Bestimmung von 10 von ihnen behandelt.

Mit dem Ziel der Ergänzung der oben genannten Norm und Implementierung eines Analyseverfahrens für ein breites Spektrum zur Verbesserung und Vereinfachung der Qualitätskontrolle in der Kosmetikbranche, bietet so gesehen diese Europäische Norm ein Analyseverfahren für die quantitative Bestimmung aller organischen UV-Filter, die in der EU zulässig und in Verwendung sind. Das vorgestellte Verfahren ist einfach, kostengünstig, schnell, benutzer- und umweltfreundlich und verfügt daneben auch über gute Analyseigenschaften. Das Verfahren basiert auf verschiedenen Analysemethoden, die zuvor von der Forschungsgruppe über Qualitätslenkung von kosmetischen Produkten der Universität Valencia [3] – [4] veröffentlicht wurden.

Tabelle 1 — Liste der nach EU-Verordnung in kosmetischen Produkten zugelassenen UV-Filter

EU-Referenz-nummer ^a	INCI-Bezeichnung ^b	Abkürzung ^c	Zulässige Konzentration (% w/w)
2	Camphor Benzalkonium Methosulfat	CBM	6
3	Homosalat	HMS	10
4	Benzophenon-3	BZ3	10
6	Phenylbenzimidazol Sulfonsäure	PBSA	8 (als Säure)
7	Terephthalylidendicampher Sulfonsäure	TDSA	10 (als Säure)
8	Butylmethoxydibenzoylmethan	BDMM	5
9	Benzylidencampher Sulfonsäure	BCSA	6 (als Säure)
10	Octocrylen	OC	10 (als Säure)
11	Polyacrylamidomethylbenzylidencampher	PBC	6
12	Ethylhexylmethoxycinnamat	EHMC	10
13	PEG-25 PABA	P25	10
14	Isoamyl-p-methoxycinnamat	IMC	10
15	Ethylhexyltriazon	EHT	5
16	Drometrisoltrisiloxan	DTS	15
17	Diethylhexylbutamidotriazon	DEBT	10
18	4-Methylbenzylidencampher	MBC	4
19	3-Benzylidencampher	3BC	2
20	Ethylhexylsalicylat	EHS	5
21	Ethylhexyldimethyl PABA	EHDP	8
22	Benzophenon-4	BZ4	5 (als Säure)
23	Methylen-bis-benzotriazolyltetramethylbutylphenol	MBBT	10
24	Phenyldibenzimidazoltetrasulfonat, Dinatriumsalz	PDTA	10 (als Säure)
25	Bis-Ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazin	BEMT	10
26	Polysilicone-15	P15	10
27	Titandioxid	TiO ₂	25
28	Diethylaminohydroxybenzoylhexylbenzoat	DHHB	10
^a Seriennummer nach Verordnung 1223/2009 der EU. ^b INCI: Internationale Nomenklatur für kosmetische Inhaltsstoffe. ^c In dieser Norm verwendete Abkürzungen.			

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Analyseverfahren basierend auf Flüssigchromatographie (en: liquid-chromatography, LC) mit UV/VIS-Spektroskopie (für Wellenlängen des ultravioletten und sichtbaren (en: visible, VIS) Lichts) für die Detektion und quantitative Bestimmung der aktuell 22 organischen und im EU-Rahmen verwendeten UV-Filter fest. Dieses Verfahren wurde für emulsionsbasierte kosmetische Produkte, Lippenbalsame, Lotionen und Wasser validiert.

2 Grundsätze

Die Probe des kosmetischen Mittels wird gewogen und in Ethalon gelöst. Für schwer lösliche Proben kann die Verwendung von Ultraschall oder Vortex hilfreich sein. Danach werden je nach den zu bestimmenden UV-Filtern Aliquoten genommen und mit einer Mischung Ethanol:Acetatpuffer, Ethanol oder Tetrahydrofuran für die Bestimmung der wasserlöslichen Gruppe, der fettlöslichen Gruppe oder von P15 (welches ein Polymer ist) verdünnt.

Hinsichtlich der wasserlöslichen Gruppe werden die 6 UV-Filter durch Anwendung einer Umkehrphasensäule und einer mobilen Phase aus Ethanol und Acetatpuffer gemessen. Hinsichtlich der fettlöslichen Gruppe werden die 15 UV-Filter durch Anwendung einer Umkehrphasensäule und einer mobilen Phase aus Ethanol und wässriger Methansäure bestimmt, die Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin als Modifikator der mobilen Phase enthält. Schließlich werden für die Bestimmung von P15 eine Größenausschluss-Säule und Tetrahydrofuran als mobile Phase verwendet.

3 Reagenzien

Sofern nicht anders festgelegt, sind analysenreine Chemikalien zu verwenden.

3.1 Reines Ethanol (EtOH), LC-Qualität.

3.2 Tetrahydrofuran (THF), LC-Qualität.

3.3 Deionisiertes Wasser, 18,2 MΩ/cm elektrische Leitfähigkeit.

3.4 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin (HP-β-CD), 1 309 g/mol Molekülmasse.

3.5 Methansäure, 98 %, d = 1,22 g/ml.

3.6 Eisessig, < 99 %, d = 1,05 g/ml.

3.7 Natriumhydroxid, Pellets.

3.8 Natriumhydroxid, 10 % (w/w) wässrige Lösung.

10 g Natriumhydroxid (3.7) einwiegen und in 100 ml deionisiertem Wasser (3.3) auflösen.

3.9 Acetatpuffer, Lösung von 1 % (v/v), pH-Wert = 4,75.

10 ml Eisessig (3.6) nehmen und mit ca. 900 ml deionisiertem Wasser (3.3) verdünnen. Durch Hinzugabe einer Natriumhydroxidlösung (3.8) die Probe mit einem pH-Messgerät auf einen pH-Wert von 4,75 einstellen. Mit bis zu 1 l deionisiertem Wasser (3.3) auffüllen.

3.10 Methansäure, Lösung von 1 % (v/v) mit 20 mmol HP-β-CD.

26,2 g HP-β-CD (3.4) einwiegen. 10 ml Eisessig (3.5) hinzufügen und mit bis zu 1 l deionisiertem Wasser (3.3) auffüllen.

3.11 Berücksichtigte UV-Filter, siehe Tabelle 2.

Tabelle 2 — Berücksichtigte UV-Filter

Typ	UV-Filter	CAS-NR
Wasserlösliche UV-Filter	Phenyldibenzimidazoltetrasulfonsäure (PDTA) (Dinatriumsalz)	180898-37-7
	Phenylbenzimidazol Sulfonsäure (PBSA)	27503-81-7
	Terephthalylidencampher Sulfonsäure (TDSA) (Triethanolaminsalz)	90457-82-2
	Benzophenon-4 (BZ4)	4065-45-6
	Camphor Benzalkonium Methosulfat (CBM) (29 % wässrige Lösung)	52793-97-2
	PEG-25 PABA (P25)	116242-27-4
Fettlösliche UV-Filter	Benzophenon-3 (BZ3)	131-57-7
	Isoamyl-p-methoxycinnamat (IMC)	71617-10-2
	4-Methylbenzylidencampher (MBC)	36861-47-9
	Diethylaminohydroxybenzoylhexylbenzoat (DHHB)	302776-68-7
	Octocrylen (OC)	6197-30-4
	Ethylhexyldimethyl PABA (EHDP)	21245-02-3
	Butylmethoxydibenzoylmethan (BMDM)	70356-09-1
	Ethylhexylmethoxycinnamat (EHMC)	5466-77-3
	Ethylhexylsalicylat (EHS)	118-60-5
	Homosalat (HMS)	118-56-9
	Diethylhexylbutamidotriazon (DEBT)	154702-15-5
	Ethylhexyltriazon (EHT)	88122-99-0
	Drometrizoltrisiloxan (DTS)	155633-54-8
	Methylen-bis-benzotriazoltetramethylbutylphenol (MBBT)	103597-45-1
	Bis-Ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazin (BEMT)	187393-00-6
Polymere UV-Filter	Polysilicone-15 (P15)	207574-74-1

3.12 Stammlösungen von UV-Filtern

Es ist eine 500 µg/ml Mehrkomponenten-Stammlösung der 6 wasserlöslichen UV-Filter in deionisiertem Wasser herzustellen. Dazu ist die entsprechende Menge des jeweiligen Standards (3.11) in einen 25-ml-Messkolben einzuwägen und ca. 10 ml deionisiertes Wasser (3.3) hinzuzufügen. Falls eine Substanz sich nicht gelöst hat, werden ein paar Tropfen einer 10 %igen Natriumhydroxidlösung (3.8) bis zur kompletten Auflösung hinzugegeben. Schließlich wird der Messkolben bis zur Markierung mit deionisiertem Wasser (3.3) aufgefüllt. Diese Lösung sollte einmal im Monat hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

Es ist eine 500 µg/ml Mehrkomponenten-Stammlösung der fettlöslichen UV-Filter in EtOH herzustellen, mit Ausnahme von MBBT und BEMT, die aufgrund der begrenzten Löslichkeit mit 100 µg/ml hergestellt werden. Dazu ist die entsprechende Menge des jeweiligen Standards (3.11) in einen 25-ml-Messkolben einzuwägen und mit ca. 10 ml EtOH (3.1) aufzulösen. Danach wird der Messkolben bis zur Markierung mit EtOH (3.1) aufgefüllt. Diese Lösung sollte einmal im Monat hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

Es ist eine 1 000 µg/ml Lösung von P15 in EtOH herzustellen. Dazu ist die entsprechende Menge von P15 (3.11) in einen 25-ml-Messkolben einzuwägen und mit ca. 10 ml EtOH (3.1) aufzulösen. Danach wird der Messkolben bis zur Markierung mit EtOH (3.1) aufgefüllt. Diese Lösung sollte einmal im Monat hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

3.13 Kalibrierungsstandardlösungen

Für die Herstellung der Kalibrierungslösungen wasserlöslicher UV-Filter sind jeweils 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml und 1,0 ml der 500 µg/ml Mehrkomponenten-Stammlösung (3.12) in fünf 10-ml-Messkolben zu überführen. 3 ml EtOH (3.1) und die Acetat-Pufferlösung (3.9) in jeden Messkolben bis zur Markierung hinzufügen. Diese EtOH:Acetat-Pufferlösungen (v/v) im Verhältnis 30:70 enthalten jeweils 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml und 50 µg/ml von jeder Zielverbindung. Diese Lösungen sollten einmal in der Woche hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

Für die Herstellung der Kalibrierungslösungen fettlöslicher UV-Filter sind jeweils 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml und 1,0 ml der 500 µg/ml Mehrkomponenten-Stammlösung (3.12) und 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml und 5 ml der 100 µg/ml Lösung von MBBP und BEMT in fünf 10-ml-Messkolben zu überführen. EtOH (3.1) in jeden Messkolben bis zur Markierung hinzufügen. Diese ethanolischen Lösungen enthalten jeweils 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml und 50 µg/ml von jeder Zielverbindung. Diese Lösungen sollten einmal in der Woche hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

Für die Herstellung der P15-Kalibrierungslösungen sind jeweils 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml und 1,0 ml der 1 000 µg/ml P15-Stammlösung (3.12) in 10-ml-Messkolben zu überführen. EtOH (3.1) oder THF (3.2) in jeden Messkolben bis zur Markierung hinzufügen. Diese Lösungen enthalten jeweils 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml und 100 µg/ml P15. Diese Lösungen sollten einmal in der Woche hergestellt, bei 4 °C gelagert und bis zur Verwendung vor Licht geschützt werden.

3.14 Arbeitsstandardlösungen

Kalibrierungsstandardlösungen (3.13) werden täglich in eine 1,5-ml-Injektionsflasche überführt. Sobald sie versiegelt sind, können sie in das LC-System injiziert werden.

4 Geräte und Hilfsmittel

Zusätzlich zur üblichen Laborausrüstung ist Folgendes erforderlich.

4.1 Membranfilter, in der Form eines Einmalspritzenfilters, Porenweite 0,45 µm.

4.2 Analysenwaage mit einer Fehlergrenze von 0,1 mg.

4.3 Ultraschallwasserbad (oder Vortex-Mischer).

4.4 pH-Messgerät.

4.5 Flüssigkeitschromatograph mit UV/Vis-Spektroskopie, bestehend aus Pumpensystem mit Gradientenfunktion, Entgaser, Probengeber, Säulenofen mit thermostatischer Regelung, UV/Vis-Detektor¹⁾ und Datenmanagementstation.

4.6 Analytische Trennsäule

Für die Bestimmung der wasserlöslichen und fettlöslichen Gruppe von UV-Filtern kann die HPLC-Säule Purospher® STAR RP-18 Endcapped²⁾ (125 mm Länge, 4 mm Innendurchmesser, 5 µm Partikelgröße) oder ein gleichwertiges Produkt verwendet werden.

Für die Bestimmung von P15 kann PLgel Mixed D²⁾ (300 mm Länge, 7,5 mm Innendurchmesser, 5 µm Partikelgröße) oder ein gleichwertiges Produkt verwendet werden.

5 Durchführung

5.1 Probenvorbereitung

Die Probe ist je nach Art zu homogenisieren (d. h. Cremes, Milch und Lotionen werden manuell geschüttelt; Lippenbalsame in kleine Stücke zerkleinert, erneut gemischt und geknetet). Dann in dreifacher Ausführung 0,02 g bis 0,20 g der Probe je nach der erwarteten Menge von UV-Filtern in einen 25-ml-Messkolben einwiegen, danach auflösen und mit EtOH (3.1) verdünnen. Bei schwerlöslichen Proben darf ein Ultraschallwasserbad (4.3) zum Dispergieren der Probe verwendet werden. Verschiedene Aliquoten zur Durchführung der Bestimmung der verschiedenen Gruppen der Zielverbindungen nehmen.

Für die Bestimmung der wasserlöslichen UV-Filter sind 1 ml bis 3 ml der oben genannten ethanolischen Probenstammlösung in einen 10-ml-Messkolben zu überführen. EtOH (3.1) zum Erreichen eines Gesamtvolumens von 2,3 ml hinzufügen und danach bis zur Markierung mit einer Actetat-Pufferlösung (3.9) auffüllen. Diese ggf. vorher durch einen Membranfilter (4.1) gefilterte Lösung in eine 1,5-ml-Injektionsflasche überführen.

Für die Bestimmung der fettlöslichen UV-Filter sind 1 ml bis 3 ml der oben genannten ethanolischen Probenstammlösung in einen 10-ml-Messkolben zu überführen. Den Messkolben bis zur Markierung mit EtOH (3.1) auffüllen. Diese ggf. vorher durch einen Membranfilter (4.1) gefilterte Lösung in eine 1,5-ml-Injektionsflasche überführen.

¹⁾ Für Identifizierungszwecke wird ein Photodiodenarray-Detektor empfohlen.

²⁾ Purospher® STAR RP-18 Endcapped und PLgel Mixed D sind Beispiele für geeignete handelsübliche Produkte. Diese Information dient der Erleichterung für den Anwender dieser Internationalen Norm und stellt keine Bewertung dieser Produkte durch CEN dar. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

Für die Bestimmung von P15 sind 1 ml bis 3 ml der oben genannten ethanolischen Probenstammlösung in einen 10-ml-Messkolben zu überführen. Den Messkolben bis zur Markierung mit EtOH (3.1) oder THF (3.2) wie in den Kalibrierungsstandardlösungen (3.13) auffüllen. Diese ggf. vorher durch einen Membranfilter (4.1) gefilterte Lösung in eine 1,5-ml-Injektionsflasche überführen.

Alle diese Lösungen sollten bis zur Injektion in der gleichen Arbeitssitzung hergestellt und vor Licht geschützt werden.

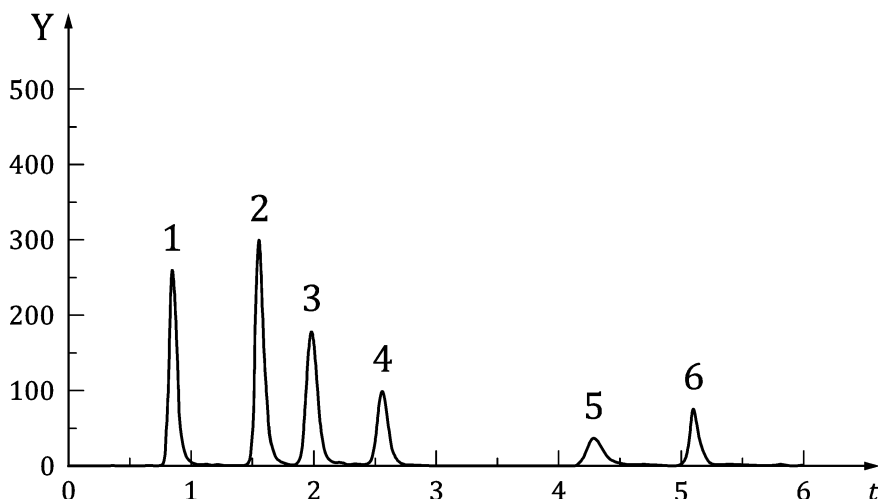
5.2 LC-UV/Vis-Messbedingungen

Bei Verwendung des Flüssigkeitschromatographs mit UV/Vis-Spektroskopie (4.5) und der Säule (4.6) für die Bestimmung wasserlöslicher UV-Filter haben sich die Bedingungen in Tabelle 3 als geeignet erwiesen. Bei Anwendung von LC-Systemen mit unterschiedlichen Verzögerungsvolumen sollten die Gradienten-Zeittabellen entsprechend angepasst werden.

Tabelle 3 — LC-UV/Vis-Bedingungen für die Bestimmung wasserlöslicher UV-Filter

Säule	Purospher® STAR RP-18 Encapped ²⁾ oder gleichwertiges Produkt		
Injektionsvolumen	5 µl		
Säulenofen	45 °C		
Gradienten-Zeittabelle der mobilen Phase	Zeit	EtOH	1 % Acetatpufferlösung, pH-Wert 4,75
	min	%, v/v	%, v/v
	0,0	30	70
	3,0	30	70
	3,5	100	0
	6,0	100	0
	6,5	30	70
	10,0	30	70
Durchfluss	1 ml/min		
Detektionswellenlänge	313 nm ^a		
^a Wird ein Diodenarray-Detektor verwendet, könnte die Wellenlänge des maximalen Absorptionsgrads der jeweiligen Verbindung verwendet werden.			

Ein Beispiel eines Chromatogramms, das man unter Verwendung der in Tabelle 3 beschriebenen LC-UV/Vis-Bedingungen erhält, wird in Bild 1 dargestellt.



Legende

Y Absorptionsgrad in mAU
t Zeit in min

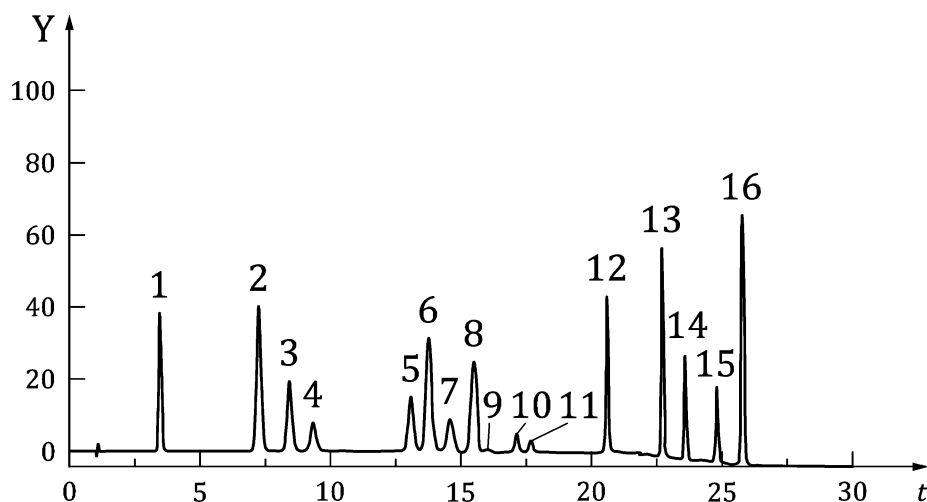
Bild 1 — Chromatogramm für eine Standardlösung der wasserlöslichen UV-Filter (20 µg/ml) unter Verwendung der in Tabelle 3 beschriebenen Bedingungen

Bei Verwendung des Flüssigkeitschromatographs mit UV/Vis-Spektroskopie (4.5) und der Säule (4.6) für die Bestimmung fettlöslicher UV-Filter haben sich die Bedingungen in Tabelle 4 als geeignet erwiesen. Bei Anwendung von LC-Systemen mit unterschiedlichen Verzögerungsvolumen sollten die Gradienten-Zeittabellen entsprechend angepasst werden.

Tabelle 4 — LC-UV/Vis-Bedingungen für die Bestimmung fettlöslicher UV-Filter

Säule	Purospher® STAR RP-18 Encapped ²⁾ oder gleichwertiges Produkt		
Injektionsvolumen	5 µl		
Säulenofen	60 °C		
Gradienten-Zeittabelle der mobilen Phase	Zeit	EtOH	Methansäure, Lösung von 1 % (v/v) mit 20 mmol HP-β-CD
	min	%, v/v	%, v/v
	0,0	55	45
	8,0	55	45
	8,5	60	40
	13,0	60	40
	23,0	100	0
	30,0	100	0
	31,0	55	45
	40,0	55	45
Durchfluss	1 ml/min		
Detektionswellenlänge	325 nm ^a		
^a Wird ein Diodenarray-Detektor verwendet, könnte die Wellenlänge des maximalen Absorptionsgrads der jeweiligen Verbindung verwendet werden.			

Ein Beispiel eines Chromatogramms, das man unter Verwendung der in Tabelle 4 beschriebenen LC-UV/Vis-Bedingungen erhält, wird in Bild 2 dargestellt.



Legende

Y Absorptionsgrad in mAU

t Zeit in min

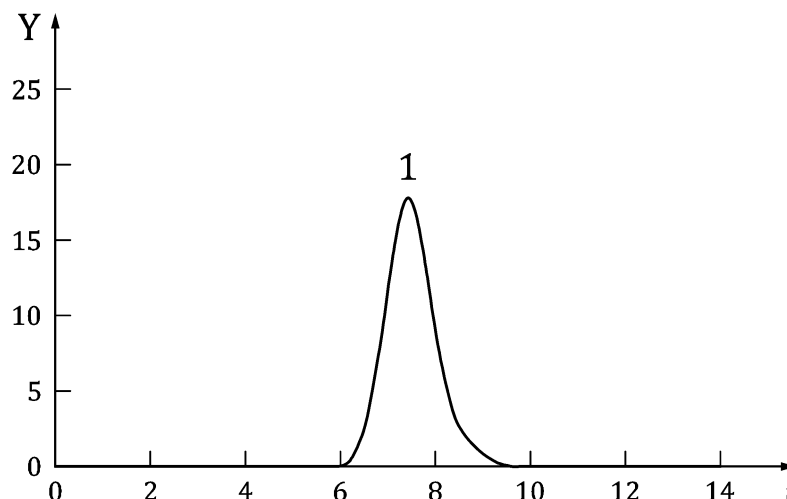
Bild 2 — Chromatogramm für eine Standardlösung der fettlöslichen UV-Filter (20 µg/ml) unter Verwendung der in Tabelle 4 beschriebenen Bedingungen

Bei Verwendung des Flüssigkeitschromatographs mit UV/Vis-Spektroskopie (4.5) und der Säule (4.6) für die Bestimmung von P15 haben sich die Bedingungen in Tabelle 5 als geeignet erwiesen. Bei Anwendung von LC-Systemen mit unterschiedlichen Verzögerungsvolumen sollten die Gradienten-Zeittabellen entsprechend angepasst werden.

Tabelle 5 — LC-UV/Vis-Bedingungen für die Bestimmung von P15

Säule	PLgel Mixed D oder gleichwertiges Produkt
Injektionsvolumen	20 µl
Säulenofen	Raumtemperatur
Mobile Phase	100 % THF
Durchfluss	1 ml/min
Detektionswellenlänge	307 nm

Ein Beispiel eines Chromatogramms, das man unter Verwendung der in Tabelle 5 beschriebenen LC-UV/Vis-Bedingungen erhält, wird in Bild 3 dargestellt.



Legende

Y Absorptionsgrad in mAU

t Zeit in min

Bild 3 — Chromatogramm für eine Standardlösung von P15 (20 µg/ml) unter Verwendung der in Tabelle 5 beschriebenen Bedingungen

6 Bewertung

6.1 Identifizierung

Die Identifizierung der UV-Filter erfolgt durch Vergleich der Retentionszeiten (und des ultravioletten Spektrums bei Verwendung eines Diodenarray-Detektors) der in der Probe festgestellten Peaks mit den Peaks der Arbeitsstandardlösungen.

6.2 Quantitative Bestimmung

Die quantitative Bestimmung des jeweiligen Zielanalyten ist anhand einer Kalibrierungsfunktion ($y = a + bx$) durchzuführen, die durch Auftragen der für den jeweiligen Zielanalyten (y) erhaltenen Peakfläche gegenüber der Konzentration der jeweiligen Arbeitsstandardlösung (x) konstruiert wird. Im Falle von P15 wird statt einer Peakfläche eine Peakhöhe empfohlen.

Die Peakfläche (oder Peakhöhe im Falle von P15), die man für den jeweiligen Zielanalyten in der jeweiligen Probenlösung (y) erhält, wird in der oben genannten Kalibrierungsfunktion interpoliert und man erhält die Konzentration der Probenlösung (x).

Der Gehalt an UV-Filter (w) in der Probe, in g/100 g, wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$w = \frac{x}{V \cdot m \cdot 40}$$

Dabei ist

w der Gehalt an UV-Filter, in g/100 g;

x der aus der Kalibrierung erhaltene Gehalt an UV-Filter, in µg/ml, in der Probenmesslösung;

V das Volumen, in ml, des aus der Probenstammlösung genommenen Aliquoten (d. h. von 1 ml bis 3 ml);

m die Ausgangsmasse der Probe in g (d. h. von 0,02 g bis 0,2 g);

40 der Umrechnungs- und Verdünnungsfaktor (µg/g bis g/100 g).

7 Untersuchungsbericht

Der Untersuchungsbericht muss die folgenden Daten enthalten:

- a) die zur Identifikation der Probe erforderlichen Angaben (Art, Herkunft und Bestimmungsort der Probe);
- b) eine Verweisung auf diese Europäischen Norm;
- c) Identifikation des Prüflabors, das diese Prüfung durchführt;
- d) Identifikation, Datum und Unterschrift der für den Bericht verantwortlichen Person;
- e) Datum und Art des Probenahmeverfahrens (sofern bekannt);
- f) Datum des Probeneingangs und Datum der Analyse;
- g) das Prüfdatum;
- h) die Untersuchungsergebnisse und die Einheiten, in denen sie angegeben wurden;
- i) Begründung für jegliche Abweichungen vom Verfahren, wie es in dieser Europäischen Norm beschrieben wird;
- j) Arbeitsschritte, die nicht in diesem Verfahren festgelegt sind oder als wahlfrei angesehen werden und die die Ergebnisse beeinflusst haben können.

Anhang A (informativ)

Ergebnisse der laborinternen Validierung

A.1 Allgemeines

Die Validierung dieses Analyseverfahrens erfolgte durch die Forschungsgruppe über Qualitätslenkung von kosmetischen Produkten der Universität Valencia durch Analyse von:

- a) selbst hergestellten Proben kosmetischer Mittel mit den Zielverbindungen in den bekannten Mengen,
- b) dotierten handelsüblichen Proben zur Bestimmung der Wiederfindungen und/oder
- c) handelsüblichen Proben verschiedener Hersteller mit den Zielverbindungen in den bekannten Mengen.

Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt.

A.2 Wasserlösliche UV-Filter

Eine wässrige Lotion wurde mit den untersuchten wasserlöslichen UV-Filtern hergestellt und danach mit dem vorgestellten Verfahren analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle A.1 dargestellt.

Tabelle A.1 — Erzielte Ergebnisse in der Analyse einer selbst hergestellten Probe

UV-Filter	Wässrige Lotion		
	Realer Gehalt %, w/w	Festgestellter Gehalt %, w/w	Fehler %
PDTA	0,77	0,80 ± 0,04	3,9
PBSA	0,72	0,72 ± 0,02	0,0
TDSA	0,73	0,73 ± 0,03	0,0
BZ4	0,45	0,44 ± 0,02	–2,2
CBS	0,63	0,61 ± 0,02	–3,2
P25	0,99	0,99 ± 0,01	0,0

Drei verschiedene Proben kosmetischer Mittel (eine wässrige Lotion und zwei Emulsionen) wurden dotiert und analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle A.2 dargestellt.

Tabelle A.2 — Erzielte Wiederfindungen in der Analyse von dotierten handelsüblichen Proben

UV-Filter	Probenwiederfindungen		
	% ^a		
	Wässrige Lotion	Milch	Creme
PDTA	99 ± 2	101 ± 1	100 ± 2
PBSA	100 ± 1	100 ± 2	102 ± 2
TDSA	100 ± 2	98 ± 2	101 ± 1
BZ4	102 ± 2	97 ± 2	100 ± 2
CBS	98 ± 2	100 ± 1	97 ± 3
P25	100 ± 1	100 ± 2	99 ± 1
^a Dotierniveau = 1 % (w/w).			

Das Verfahren wurde auch für handelsübliche Proben verschiedener Hersteller mit den Zielverbindungen in den bekannten Mengen angewandt und hervorragende Ergebnisse wurden dabei erzielt. Einige Beispiele werden in Tabelle A.3 angeführt und mehr Beispiele in Bild A.1 grafisch dargestellt.

Tabelle A.3 — Beispiel der während der Analyse von 5 handelsüblichen Proben erzielten Ergebnisse im Vergleich zu den angegebenen Mengen (% w/w)

UV-Filter	Wässrige Lotion		Wässrige Lotion		Creme		Wässrig-alkoholische Lotion		Milch	
	Angegeben	Festgestellt	Angegeben	Festgestellt	Angegeben	Festgestellt	Angegeben	Festgestellt	Angegeben	Festgestellt
PDTA							0,5	0,51 ± 0,01		
PBSA	1,5	1,60 ± 0,02	3	3,10 ± 0,03	4	3,88 ± 0,03	1	1,00 ± 0,01	1,5	1,53 ± 0,03
TDSA										
BZ4	0,5	0,54 ± 0,01	1	1,10 ± 0,01						
CBS										
P25										

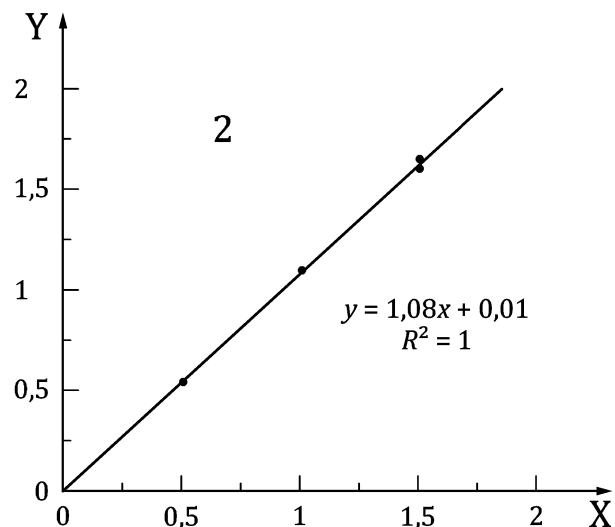
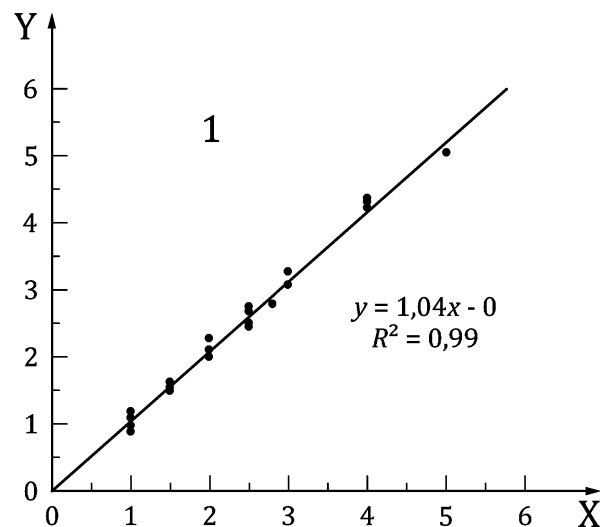


Bild A.1 — Einige Ergebnisse, die während der Analyse handelsüblicher Proben erzielt wurden, deren Mengen von den Herstellern angegeben sind