



Hochschule Neubrandenburg
University of Applied Sciences

Fachbereich: Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

Studiengang: Lebensmittel- und Bioprodukttechnologie

Sommersemester 2021

Masterthesis:

**Entwicklung und Validierung einer
GC-MS/MS Multimethode für Duftstoffe in
Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen**

Verfasser: Anna-Lena Splinter

Betreuer: Prof. Dr. rer. nat. Christine Wittmann

Dipl.-Lebensmittelchemiker Martin Hartung

URN: urn:nbn:de:gbv:519-thesis2021-0047-3

Abgabedatum: 15.10.2021

Abstract

Fragrances are an essential part of our daily lives, as they are found in nature as well as in food. They are fundamental to a perfume and are added to numerous everyday products, like cosmetics. These agents come into direct contact with humans, so only safe cosmetic products should be placed on the market. In order to ensure a high level of health protection, the EU Cosmetics Regulation (EC) No. 1223/2009 lays down corresponding regulations.

Fragrances, along with preservatives, are the most common allergens in cosmetics and are therefore critical ingredients. Therefore, it is also important to control them by an analysis, for example a GC-MS. Currently, there is a declaration requirement for 26 fragrances if their content in products that are washed off again after use (shower gel, hair shampoo, soap) exceeds 100 ppm (mg/kg) and their content in products that remain on the skin or hair (cream, perfume, hair setting lotion) exceeds 10 ppm (mg/kg).

Therefore, this work deals with the development and validation of a GC-MS/MS multimethod for the detection of fragrances in cosmetics and cosmetic base materials. In consultation with the company, 28 fragrances were selected, including the 26 allergenic fragrances that the multimethod should include. First, a method for sample preparation, based on extraction, was developed.

Fundamental to the development of a GC-MS/MS method is the determination of specific mass transitions and the associated collision energies for each individual fragrance. Crucial to the separation of a mixture into its constituents is the choice of column and temperature program. In this work, after experiments with different columns, a DB-Wax column and a 28-minute temperature program were chosen.

With the method developed, detection of the chosen 28 fragrances was possible and validation of these was possible. The validation included determination of limit of detection, limit of quantitation, repeatability, reproducibility of sample preparation, reproducibility of sample preparation, and determination of trueness. In conclusion, 26 of 28 fragrances showed the desired results in all areas except trueness. In the determination of trueness, several fragrances did not give the desired values.

Inhaltsverzeichnis	
Abkürzungsverzeichnis	5
Formelverzeichnis	7
1 Einleitung	8
2 Stand der Wissenschaft und Technik	9
2.1 Rechtliche Grundlagen	9
2.2 Duftstoffe in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen	12
2.3 Duftstoffe als Allergene	13
2.4 Gaschromatographie	15
2.5 Massenspektroskopie	18
3 Material und Methoden	21
3.1 Versuchsplanung, Projektübersicht	21
3.2 Verwendete Materialien	22
3.3 Verwendete Chemikalien und Duftstoffe	23
3.4 Verwendete Geräte	26
3.5 Verwendete GC- und MS-Einstellungen	27
3.5.1 Einstellungen: Erste Analysen und Tuning	27
3.5.2 Einstellungen: Prüfen der Retentionszeiten	28
3.5.3 Einstellungen: Versuche mit der DB-1-Säule	29
3.5.4 Einstellungen: Versuche mit der HP-5-Säule	30
3.5.5 Einstellungen: Versuche mit der DB-WAX-Säule/ Endeinstellungen	30
3.6 Versuchsdurchführung	31
3.6.1 Extraktion der Duftstoffe aus Kosmetikprodukten/ Probenvorbereitung	31
3.6.2 Massenspektren der Duftstoffe	31
3.6.3 Tuning der Duftstoffe	33
3.6.4 Prüfen der Retentionszeiten	34
3.6.5 Zwischenfazit: Prüfen der Retentionszeiten	35
3.6.6 Methodenentwicklung	36
3.6.6.1 Optimierung der Massenübergänge mittels einer DB-1-Säule	36

3.6.6.2 Zwischenfazit: Optimierung der Massenübergänge mittels einer DB-1-Säule	36
3.6.6.3 Erstellen einer Gesamtmethode mittels einer DB-1-Säule	36
3.6.6.4 Zwischenfazit: Erstellen einer Gesamtmethode mittels einer DB-1-Säule	41
3.6.6.5 Optimierung der Säule: Verwendung einer HP-5-Säule	42
3.6.6.6 Zwischenfazit: Versuchsreihe unter Nutzung einer HP-5-Säule	42
3.6.6.7 Optimierung der Säule: Verwendung einer DB-Wax-Säule	43
3.6.7 Erstellen der endgültigen Methode	43
3.6.8 Erstellen der Kalibrationsgeraden	44
3.6.9 Methodvalidierung	44
3.6.9.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen	44
3.6.9.2 Wiederholbarkeit	45
3.6.9.3 Reproduzierbarkeit	45
3.6.8.4 Bestimmung der Richtigkeit	46
4 Ergebnisse	47
4.1 Extraktion der Duftstoffe aus Kosmetikprodukten/Probenvorbereitung	47
4.2 Massenspektren der Duftstoffe	47
4.3 Tuning der Duftstoffe	49
4.4 Finale Methode	50
4.5 Erstellen der Kalibrationsgeraden	53
4.6 Methodvalidierung	55
4.6.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenze	55
4.6.2 Wiederholbarkeit	57
4.6.3 Reproduzierbarkeit	60
4.6.4 Bestimmung der Richtigkeit	63
5 Diskussion	67
7 Literatur	73
8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	81

Abkürzungsverzeichnis

BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
CE	Collision Energy
CH-Radikale	Kohlenstoffradikal
CHO ⁺ -Ion	positives geladenes Aldehydgruppen-Ion
DGMS	Deutsche Gesellschaft für Massenspektrometrie
d.h.	das heißt
EG	Europäische Gemeinschaft
EI	Elektronenstoßionisation
EU	Europäische Union
eV	Elektronenvolt
FID	Flammenionisationsdetektor
µl	Mikroliter
GC	Gaschromatographie
GC-FID	Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor
GSC	Gas-Festchromatographie
GLC	Gas-Flüssigchromatographie
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
GC-MS/MS	Gaschromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung
i.d.R.	in der Regel
k.A.	keine Angabe
Lsg.-mittel	Lösungsmittel
MCS	Multiple Chemical Sensitivity
MID	Multiple Ion Detection
MRM	Multi Reaction Monitoring
MS	Massenspektrometrie
MSD	massenselektiver Detektor
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnisses
PF	Peakfläche
PP	Polypropylen
ppm	parts per million

RT	Retentionszeit
SIM	Single Ion Monitoring
STABW	Standardabweichung
UI	Ultra Inert
UPM	Umdrehungen pro Minute
WLD	Wärmeleitfähigkeitsdetektor

Formelverzeichnis

Beschreibung	Formel
Mittelwert	$MW = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i$
Standardabweichung	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$
Grubbs-Ausreißertest	$PW = \frac{\max x_i - \bar{x} }{s}$
Geradengleichung	$y = m \cdot x + n$
F-Test (für Kalibrierung)	$PW = \frac{(N_1 - 2) \cdot s_{y1}^2 - (N_2 - 2) \cdot s_{y2}^2}{s_{y2}^2}$
Variationskoeffizient	$VK_{x0} = \frac{s_{x0}}{x} \cdot 100\%$
Nachweisgrenze (analytisch, Leerwertmethode)	$x_{NG} = \frac{s_L}{b} \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}}$
Bestimmungsgrenze (analytisch, Leerwertmethode)	$x_{BG} = k \cdot \frac{s_L}{b} \cdot t_{f;\alpha/2} \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}}$
Nachweisgrenze (methodisch)	$3 \cdot STABW$
Bestimmungsgrenze (methodisch)	$6 \cdot STABW$

1 Einleitung

In unserem täglichen Leben sind Düfte ein essenzieller Bestandteil, da sie in der Natur sowie in Lebensmitteln vorkommen. Sie sind grundlegend für ein Parfüm und werden in zahlreichen Alltagsprodukten, wie Kosmetika zugesetzt. (Kindle und Raab, 2012)

Kosmetika umfassen eine heterogene Produktfamilie und werden von jedem Verbraucher verwendet, denn auch Sonnencreme und Zahnpasta sind Kosmetika. (BVL: Kosmetik; Bernstein, 2018)

Da diese Mittel in direkten Kontakt mit dem Menschen kommen, dürfen nur sichere Kosmetikprodukte auf den Markt gebracht werden. Damit ein hohes Niveau des Gesundheitsschutzes gewährleistet werden kann, werden von der EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr. 1223/2009 entsprechende Vorschriften festgelegt. (BMEL: Kosmetische Mittel, 2019)

Hersteller erfüllen den Wunsch der Konsumenten nach wohlriechenden Körperpflegemitteln durch den Zusatz von Duftstoffen. Daher sind diese ein essentieller Bestandteil in Kosmetika. Es handelt sich dabei zumeist um relativ flüchtige, zykloliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Ester, Aldehyde oder Ketone. Duftstoffe sollen den Menschen lediglich emotional ansprechen und erfüllen keinen gesundheitlichen Zweck. (Nagorka, Straff und Wolter, 2016), (Kindl und Raab, 2012)

Problematisch werden Duftstoffe für Menschen, die allergisch auf einen oder mehrere Stoffe reagieren. In den meisten Fällen handelt es sich um eine Kontaktallergie des Typ IV. Duftstoffe stellen für empfindliche Menschen auch eine Belastung der Raumluft dar. Die Duftmoleküle berühren dabei nicht nur die Haut, sondern auch beim Einatmen die Schleimhäute der Atemwege. Dabei können unter Umständen Atemwegssymptome entstehen. (Kirsten, 2013; Klaschka, 2010)

In der EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr. 1223/2009 wird die Verwendung von Duftstoffen festgelegt. Zurzeit zählen 26 Duftstoffe als potentiell allergieauslösende Stoffe, welche unter gewissen Bedingungen deklarationspflichtig sind.

Ziel dieser Arbeit ist daher, die Entwicklung und Validierung einer GC-MS/MS Multimethode für Duftstoffe in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen. In Absprache mit dem Betrieb und einem Partnerlabor wurde festgelegt, dass die Methode zusätzlich zu den 26 potentiell allergenen Duftstoffen, die Duftstoffe Majantol und Methyleugenol enthalten soll. Majantol ist ein noch nicht regulierter Duftstoff, welcher ein allergenes Potential aufweist.

Die entwickelte Methode kann dann für Kundenanfragen und zur Kontrolle der verwendeten Duftstoffe in Kosmetika verwendet werden.

2 Stand der Wissenschaft und Technik

2.1 Rechtliche Grundlagen

Unter Kosmetik oder kosmetische Mittel versteht man “Stoffe oder Gemische, die dazu bestimmt sind, äußerlich mit den Teilen des menschlichen Körpers (Haut, Behaarungssystem, Nägel, Lippen und äußere intime Regionen) oder mit den Zähnen und den Schleimhäuten der Mundhöhle in Berührung zu kommen, und zwar zu dem ausschließlichen oder überwiegenden Zweck, diese zu reinigen, zu parfümieren, ihr Aussehen zu verändern, sie zu schützen, sie in gutem Zustand zu halten oder den Körpergeruch zu beeinflussen”. (Verordnung (EG) Nr.1223/2009 des europäischen Parlaments und des Rates)

Es sollten nur sichere Kosmetikprodukte auf den Markt gebracht werden. Entsprechende Vorschriften legt die EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr.1223/2009 fest, um ein hohes Niveau des Gesundheitsschutzes zu gewährleisten. (BMEL, 2019)

Diese Verordnung ist seit Anfang 2010 als unmittelbare und EU-weite Verordnung für kosmetische Mittel gültig. Sie unterliegt ständiger Änderung insbesondere der Erweiterung oder Streichung von Stoffen. Mit dieser Verordnung werden die wesentlichen Anforderungen und Verpflichtungen bei kosmetischen Mitteln geregelt. Ergänzt wird diese durch die Verordnung (EU) Nr. 655/2013 zur Festlegung gemeinsamer Kriterien zur Begründung von Werbeaussagen im Zusammenhang mit kosmetischen Mitteln. Dazu ergänzend dient das „Technical document on cosmetic claims“, mit Festlegung gemeinsamer Kriterien für die Verwendung von Werbeaussagen. Die festgelegten Kriterien sollen, mit Hilfe von konkreten Beispielen, für die Werbung kosmetischer Mittel, nachvollziehbar dargestellt werden. Außerdem werden Punkte, welche nicht bereits europaweit einheitlich geregelt sind, durch die deutsche Verordnung über kosmetische Mittel geregelt. Dazu zählt eine Anzeigepflicht bei den Überwachungsbehörden für in Deutschland ansässige Kosmetikfirmen, zum Ort, wo die kosmetischen Mittel hergestellt oder in die EU eingeführt werden. Außerdem gibt es die Vorgabe, dass die Kennzeichnung der Produkte in deutscher Sprache erfolgen muss, insbesondere bei Anwendung- und Warnhinweisen (nicht die INCI-Kennzeichnung). Zudem muss die Kennzeichnung von nicht vorverpackten kosmetischen Mitteln genauso erfolgen, wie bei verpackten Produkten. Auch die nationale Sanktionierung bei Verstößen, also die Strafen und Bußgelder, sind in dieser Verordnung geregelt. (BVL, 2021)

Ein wichtiger Punkt, welcher in der EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr.1223/2009 festgelegt ist, ist die Kennzeichnung von Duftstoffen. Im Gegensatz zu den anderen Inhaltsstoffen müssen Stoffe zur Parfümierung (Riech- und Aromastoffe) nicht einzeln angegeben, sondern können

unter dem Begriff Parfüm oder Aroma zusammengefasst werden. Jedoch, um Personen zu schützen, die allergisch oder überempfindlich auf bestimmte Duftstoffe reagieren, müssen zurzeit 26 Duftstoffe, unter bestimmten Voraussetzungen, zusätzlich deklariert werden. Dieses muss erfolgen, wenn ihr Gehalt in Produkten, die nach der Benutzung wieder abgewaschen werden (Duschgel, Haarwaschmittel, Seife), 100 ppm (mg/kg) übersteigt und ihr Gehalt in Produkten, die auf der Haut oder den Haaren verbleiben (Creme, Parfüm, Haarfestiger), 10 ppm (mg/kg) übersteigt. (BVL, 2021)

In der Tabelle 1 sind diese Duftstoffe aufgelistet.

Tabelle 1: Auflistung der deklarationspflichtigen Duftstoffe

Nr.	Duftstoffe	
1/2	α -Amylzimtaldehyd (Flosal®)	Farnesol
3/4	α -Amyl-Zimtalkohol	Geraniol
5/6	Anisalkohol	α -Hexylzimtaldehyd
7/8	Benzylalkohol	Hydroxycitronellal
9/10	Benzylbenzoat	Isoeugenol
11/12	Benzylcinnamat	α -Isomethylionon
13/14	Benzylsalicylat	2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial®)
15/16	Zimtaldehyd	Limonen
17/18	Zimtalkohol	Linalool
19/20	Citral	Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd (Lylal®)
21/22	Citronellol	Methylheptincarbonat (Folione®)
23/24	Cumarin	Evernia Prunastri Extract (Eichenmoosextrakt)
25/26	Eugenol	Evernia Furfuracea Extract (Baummoosextrakt)

Nicht nur die Duftstoffe müssen deklariert werden, sondern ähnlich wie bei verpackten Lebensmitteln gibt es auch auf Kosmetikprodukten eine Art Zutatenliste. In dieser müssen in schriftlicher Form alle Bestandteile angegeben werden. Dieses hat zum Ziel, dass die Verbraucher überprüfen können, ob die Kosmetik kritische Stoffe enthält oder nicht.

Außerdem muss Kosmetik, in der gesamten Europäischen Union, ein Mindesthaltbarkeitsdatum tragen, wenn sie nicht länger als 30 Monate haltbar ist. Diese sagt aus, dass bei richtiger Lagerung das Produkt seine ursprüngliche Beschaffenheit und Funktion noch besitzt. Produkte, welche länger als 30 Monate haltbar sind und nicht geöffnet (Spraydosen) oder sofort vollständig verbraucht werden (Einmalpackungen), brauchen diese Kennzeichnung nicht. (BVL, 2021)

Ein Beispiel für die Angabe aller Bestandteile auf der Verpackung zeigt die Abbildung 1.



Abbildung 1: Angabe aller Bestandteile auf einer kosmetischen Verpackung
(BVL: Kennzeichnung von Kosmetik)

2.2 Duftstoffe in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen

Kosmetika und kosmetische Mittel sind lediglich dazu bestimmt äußerlich am Körper des Menschen oder in seiner Mundhöhle angewendet zu werden. Sie erfüllen den Zweck der Reinigung, dem Schutz, der Bewahrung eines guten Zustandes, der Parfümierung, der Änderung des Aussehens und der Beeinflussung des Körpergeruchs. (Legrum, 2015)

Individuellen Körpergeruch empfindet der moderne Mensch westlicher Prägung als aufdringlich oder sogar abstoßend. Daher empfindet er das Verlangen sich jeden Tag duschen und parfümieren zu müssen, sonst fühlt er sich schmutzig bzw. unwohl. Diesem Verlangen gehen Hersteller von Kosmetika und kosmetischen Produkten nach, indem sie diese mit angenehmen Gerüchen (Duftstoffe) versetzen. (Bottenbruch und Hausen, 2001)

In der Nasenschleimhaut des Menschen befinden sich 10 Millionen Sinneszellen. Mittels dieser sind wir in der Lage mehrere tausend Gerüche zu unterscheiden. In vielen Fällen verbindet man Gerüche mit einer eindeutigen Situation. Ein Beispiel dafür ist der Geruch von Lebkuchen und Tannennadeln, welcher an Weihnachten erinnert. (Duden Learnattack, 2010)

In unserem Alltag begegnen uns Duftstoffe ständig, da diese zum Beispiel in Zahnpasta, Duschmitteln und Parfüms enthalten sind. Ungefähr 3000 verschiedene Duftstoffe werden in der Duftstoffindustrie verwendet. 300 oder mehr verschiedene Duftstoffe kann ein einzelnes Eau de Toilette enthalten. Der Duftstoffanteil in Kosmetika liegt meist bei 0,2-1% in Cremes, Shampoos, etc. und bei bis zu 3% in Deostiften. Oft sind bis zu 100 Duftstoffe in einer Konzentration von je ca. 0,002 - 0,03% in Parfüms enthalten. (Bresser, 2021)

Derzeit gibt es 26 Duftstoffe, welche von besonderer Bedeutung sind, da diese ein allergieauslösendes Potential besitzen. Beispiele für Duftstoffe, welche häufig verwendet werden, sind Limonene, Isoeugenol, Farnesol, Citral und Zimtaldehyd. Limonene stammt aus der Gruppe der Terpene und ist ein Naturstoff. Dieser kommt vor allem im Schalenöl von Zitrusfrüchten vor und duftet orangerartig. Zur Stoffgruppe der Phenylpropanoide gehört Isoeugenol. Es handelt sich dabei um eine gelbliche, viskose Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch nach Gewürznelke. Dieser verleiht insbesondere Duft- und Rasierwassern, Deodorants und Seifen einen blumig-würzigen Geruch. An den Duft von Maiglöckchen erinnert der Duftstoff Farnesol. Dieser ist ein acyclischer Sesquiterpen-Alkohol mit einem blumigen Duft. Zudem ist Farnesol ein Insektenhormon und Pheromon. Er ist zudem im Öl von Moschuskörnern, Lindenblüten sowie in anderen ätherischen Ölen wie Anis-, Jasmin- und Rosenöl enthalten. Farnesol besitzt neben seiner parfümierenden- auch eine antibakterielle-Wirkung und wird in der Kosmetikindustrie vielseitig eingesetzt. Ein Duftstoff, welcher dem Parfüm eine frische Note verleiht, ist Citral. Dieser ist wesentlicher Bestandteil von

Lemongrasöl und dient der Blattschneiderameise als Alarmpheromon. Citral hat einen intensiven Duft nach Zitrone und ist fast unlöslich in Wasser. Ein weiterer Duftstoff, welcher Produkte wie z. B. Lippenstifte, Waschmittel, Reinigungsmittel, Zahnpasta und Mundwasser mit einer würzigen Geruchsnote parfümiert, ist Zimtaldehyd. Es ist eine intensiv, nach Zimt riechende, ölige Flüssigkeit. Zimtaldehyd ist der Haupt Aromastoff der Zimtrinde und kommt zudem natürlich im Zimtrindenöl (42-68 %) und Cassiaöl (bis 90 %) vor. (Weseloh, 2017; Meiners, 2016)

2.3 Duftstoffe als Allergene

Duftstoffe sind neben Konservierungsstoffen in Kosmetika die häufigsten Allergene und somit kritische Bestandteile. Daher ist es auch wichtig diese, durch eine Analyse, zum Beispiel einer GC-MS, zu kontrollieren.

Einige Duftstoffe sind Auslöser für eine Kontaktallergie und sie gehören daher nach Nickel zu den häufigsten Verursachern dieser Allergie. (Nds. Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2021; Brans und Geier, 2020)

Die Duftstoff-Kontaktallergie zählt zu den Allergien des Typs IV. Diese wird auch als Spättyp bezeichnet. Zur sogenannten Sensibilisierung kommt es nach einem oder mehreren Kontakten mit dem Allergen. Dabei stuft der Körper einen eigentlich harmlosen Stoff als bedrohlich ein und mobilisiert sein Immunsystem. Sobald sich eine Allergie durch einen Erstkontakt mit einem allergenen Stoff manifestiert hat, besteht sie lebenslang. (Kröpke, 2021)

Die Bezeichnung Spättyp bezieht sich darauf, dass die Allergie-Symptome mit einer gewissen Zeitverzögerung, einige Stunden bis Tage, nach dem Kontakt mit dem Allergen, auftreten. (Barth, 2012; Kirsten, 2013; Nickel, 2021)

Die Allergiegefährlichkeit der Duftstoffe ist jedoch sehr unterschiedlich. Bei natürlichen Pflanzendestillaten, z.B. Rosenwasser, ist die Allergiegefährdung geringer als bei synthetischen Mischungen von zahlreichen Duftchemikalien. (Bresser, 2021)

Juckende Hautrötungen, Schwellungen, nässende Bläschen, Quaddeln, Schuppung, Juckreiz bis hin zu chronischen Entzündungen, an den Stellen, welche direkten Kontakt mit dem allergenen Stoff hatten, sind typische Symptome dieser Allergie. Zudem kann es auch zu Kopfschmerzen, Übelkeit, Kreislaufproblemen und Luftnot bis hin zu Asthmaanfällen führen. (Nickel, 2021; Barth, 2012; Kröpke, 2021; Kirsten, 2013)

Oft werden von Duftstoffallergikern auch chemisch ähnliche Substanzen nicht vertragen. Dabei handelt es sich dann um eine Kreuzallergie. Dabei ist besondere Aufmerksamkeit auf die Stoffe

Perubalsam, Eugenol und Isoeugenol, Zimt, Piment / Nelkenpfeffer, Muskatnuss, Kampfer, Rosenöl, Gartennelken, Hyazinthen, Veilchen, Kolophonium, Fruchtsäuren, Tigerbalsam, Vanille, Tolubalsam, Koniferenöl, Tannenöl, Propolis geboten. (Bresser, 2021)

Auch durch Raumerfrischer und Raumdüfte befinden sich immer mehr Duftstoffe in der Luft. In der Regel wird eine allergische Reaktion durch den direkten Kontakt des Allergens mit der Haut ausgelöst. Jedoch kann es auch zu Hautreaktionen kommen, wenn die Luft hohe Mengen von Duftstoffallergenen enthält, aber auch geringe Konzentrationen können zu Problemen bei empfindlichen Personen, Asthmatikern oder MCS-Betroffenen (Multiple Chemical Sensitivity) führen. (Barth, 2012; Kirsten, 2013)

Man geht davon aus, dass bis zu 4% der allgemeinen Bevölkerung gegen Duftstoffe sensibilisiert sind. In Studien erfolgte eine Untersuchung dieser Allergie mittels einem Duftstoff-Mix I und II. Der Duftstoff-Mix I enthält 8 Duftstoffe, die zu den 26 deklarationspflichtigen Duftstoffen zählen. Dieser enthält α -Amyl-Zimtalkohol 1 %, Zimtalkohol 1 %, Zimtaldehyd 1 %, Isoeugenol 1 %, Eugenol 1 %, Hydroxycitronellal 1 %, Geraniol 1 %, Eichenmoos Aabsolue 1 % und wurde bereits vor mehr als 20 Jahren entwickelt. Ergänzend dazu gibt es den Duftstoff-Mix II, da einige Substanzen des Duftstoff-Mixes I in der Industrie nicht mehr so häufig eingesetzt werden. Der Duftstoff-Mix II enthält Lyral 2,5 %, Citral 1 %, Farnesol 2,5 %, Citronellol 0,5 %, α -Hexyl-Zimtaldehyd 5,0 %, Cumarin 2,5 %. Zusätzlich werden häufig Perubalsam (25%), Terpentin (10 %) und Lyral (5 %) getestet. Dabei steigt die Häufigkeit positiver Reaktionen auf den Duftstoff-Mix I an und die positive Reaktion auf den Duftstoff-Mix II sinkt. Der Duftstoff mit den meisten positiven Testreaktionen aus dem Mix I ist Isoeugenol und hat somit den Duftstoff Eichenmoos absolue abgelöst. Bei dem Mix II ist es nach wie vor der Duftstoff Hydroxyisohehexyl-3-cyclohexen-carboxaldehyd (Lyral). (Kiel und Linnemann, 2020; Brans und Geier, 2020)

2.4 Gaschromatographie

Die Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren, bei welchem sich die zu trennenden Substanzen, die Analyten, zwischen zwei nicht mischbaren Phasen verteilen. Dabei bezeichnet der Begriff Phase einen stofflichen Aggregatzustand. Daher kann eine chromatographische Phase ein Feststoff, eine Flüssigkeit oder ein Gas sein. Die beiden Phasen unterscheidet man in stationäre und mobile Phase. Die mobile Phase durchströmt die chromatische Trennstrecke in einer Richtung und bewirkt den Stofftransport. Für die mobile Phase können nur fluide Stoffe eingesetzt werden. Daraus ergibt sich eine formale Einteilung in die Verfahren der Gaschromatographie und der Flüssigchromatographie. (Kolb, 2002)

Die erste Methode der Gaschromatographie wurde Anfang der 1950er Jahre entwickelt und seitdem schrittweise ausgebaut und weiterentwickelt.

Diese sehr empfindliche Methode dient zur Analyse von Stoffgemischen, mit deren Hilfe sich diese in einzelne Komponenten auftrennen lassen. Dabei ist eine Voraussetzung, dass die Verbindungen bei den angewandten Temperaturen unzersetzt verdampfbar sind. Falls dieses nicht erfüllt ist, kann auch eine chemische Derivatisierung vorgenommen werden. (Legrum, 2015)

In der Gaschromatographie wird mit einer gasförmigen mobilen Phase, dem Trägergas, ein gasförmiger Analyt durch die Säule, welche die stationäre Phase beinhaltet, transportiert. (Harris, 2014)

Für die durchgeführten Versuche dieser Arbeit wurde als mobile Phase das Edelgas Helium verwendet. Als stationäre Phasen dienten die Säulen DB-1 (100% Dimethylpolysiloxan), HP-5 (5% Phenyl-Methylpolysiloxan) und DB-WAX (Polyethylene Glycol).

Die Trennung der Probenbestandteile erfolgt auf der in Abhängigkeit von ihrer physikochemischen Natur unterschiedlich stark ausgeprägten, wiederholten Adsorption und Desorption der Substanzen an der stationären Phase. Starke Wechselwirkungen führen dabei zu einer großen zeitlichen Verzögerung und dadurch späten Elution der Substanzen von der Trennsäule. Andersherum führen schwach ausgeprägte Wechselwirkungen zu einem schnellen Eintreffen der entsprechenden Substanzen im Detektor. (Stauffer, 2008)

Die Apparatur der Gaschromatographie besteht grundlegend aus einem Gasreservoir, einer Probenaufgabeeinheit, der Trennsäule und einem Detektor. (Gressner und Arndt, 2019)

Das Trägergas befindet sich in einer Druckflasche. Der für den Analyseprozess benötigte Druck wird durch Ventile eingestellt. Ein entscheidendes Kriterium für die Wahl des Trägergases ist seine inerte Eigenschaft gegenüber des Analyten und der stationären Phase.

Häufig verwendete Inertgase sind Stickstoff, Helium, Wasserstoff und Argon. (Matissek, Steiner und Fischer, 2018)

Die Probenaufgabe hat erheblichen Einfluss auf das Trennergebnis. Die Probe wird über einen Injektor in die Säule gespritzt, wobei der Injektor über ein Gummiseptum abgedichtet wird. Für das Einspritzen in die Säule werden entweder das Split-Verfahren oder das Splitless-Verfahren verwendet. Beim Splitless-Verfahren soll das gesamte eingespritzte Probenvolumen auf die Säule gelangen, welches bei gepackten Säulen i.d.R. gut funktioniert. Allerdings besteht bei Kapillarsäulen das Problem einer reproduzierbaren Probenaufgabe, weil bei ihnen die Kapazität meist um den Faktor 100 - 1000 geringer ist als bei einer gepackten Säule. Aus diesem Grund wird beim Einsatz einer Kapillarsäule das Split-Verfahren bzw. die Split-Injektion angewendet. Anders als bei der Splitless-Injektion wird der Trägergasstrom aufgeteilt, sodass nur ein Bruchteil auf die Säule gelangt und der größte Teil aus dem Injektor und Chromatographen als Abfall abgeführt wird. Abbildung 2 gibt beide Injektionsverfahren mit ihren Volumenströmen wieder.

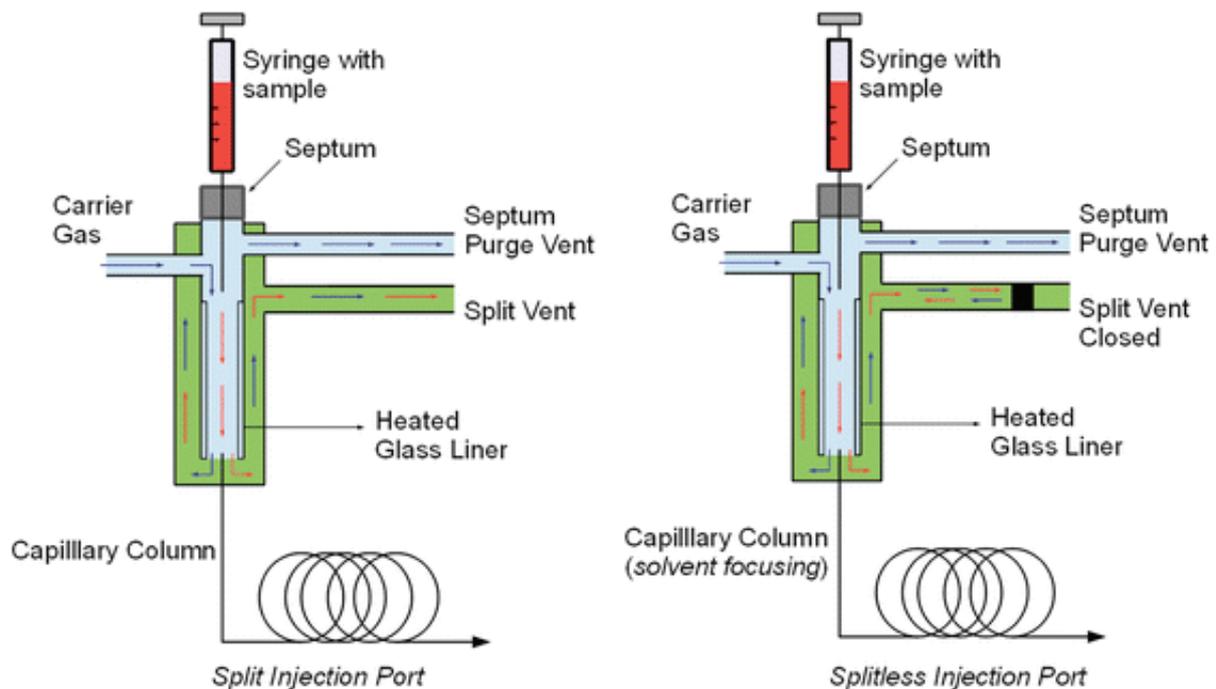


Abbildung 2: Injektor bei der GC im splitless- und split-Betrieb (Sánchez-Guijo; Hartmann; Wudy, 2013)

Die eigentliche Trennung des Analyten findet in der Trennsäule statt. Die Trennsäulen für die Gaschromatographie werden in gepackte Säulen (1–50 mm Innendurchmesser) und Kapillarsäulen (30–500 mm Innendurchmesser, 1–100 m Länge) unterschieden. Dabei liegt die

stationäre Phase entweder als dicht gepacktes Sorbens (GSC) oder als ein dünner Flüssigkeitsfilm (GLC) vor. (Gressner und Arndt, 2019)

Jedoch kommen in der GC fast ausschließlich sehr dünne Kapillarsäulen, mit einem Innendurchmesser von 100–500 μm , zum Einsatz. Die verwendete Säule befindet sich in einem temperierbaren Ofen. Dieser muss dazu in der Lage sein, die Säule über ihre gesamte Länge hinweg (10–100 m; üblich sind etwa 30 m) idealerweise homogen zu beheizen. Somit stellt man sicher, dass der Dampfdruck, aller zu trennenden Komponenten, (Analyten, Lösemittel etc.) über die Gesamtlänge, konstant bleibt. (Ritgen, 2020)

Nachdem der Analyt getrennt wurde, benötigt man nun einen Detektor. Dieser wird eingesetzt, um eine charakteristische Eigenschaft der eluierenden Stoffe zu erfassen und diese in ein elektrisches Signal umzuwandeln. Es gibt verschiedene Möglichkeiten wie die Detektoren bei der GC unterschieden werden können. Zum Beispiel kann die Einteilung in nicht-destruktive Detektoren (wie Wärmeleitfähigkeitsdetektor - WLD) und destruktive Detektoren (wie massenselektiver Detektor - MSD und Flammen-Ionisationsdetektor-FID) erfolgen. (Legrum, 2015)

Bei dem Flammenionisationsdetektor wird das Eluat in einem Gemisch aus H_2 und Luft, im Detektor, verbrannt. Dabei werden von den Kohlenstoffatomen CH-Radikale erzeugt, welche in der Flamme zu CHO^+ -Ionen und Elektronen umgesetzt werden. Durch die Ionisierung des Analyten fließt ein messbarer Strom. Als Anode dient die Sammelelektrode, welche sich über der Flamme befindet. Die Flammenspitze und die Düse wirken als Kathode. Befindet sich im FID lediglich das Trägergas, fließt kein Strom. (Harris, 2014)

Für die Durchführung der Masterarbeit wurde größtenteils der massenselektive Detektor verwendet, welcher im nächsten Kapitel näher beschrieben wird.

2.5 Massenspektroskopie

An eine erfolgreiche Gaschromatographie schließt sich die Detektion an, bei welcher die getrennten Ionen in Signale umgewandelt werden.

Einer der wichtigsten Detektoren ist der massenselektive Detektor, welcher auf dem Prinzip der Massenspektrometrie beruht. Dieser ist sowohl universell, als auch selektiv einsetzbar. (Legrum, 2015)

Die Massenspektrometrie ist eine sehr leistungsstarke, weit verbreitete und vielseitige Technik für quantitative und qualitative Analysen. (Schug, 2014)

Bei der Massenspektrometrie handelt es sich um ein physikalisches Verfahren. Dieses basiert auf der Manipulation von Ionen in der Gasphase auf der Grundlage ihres Masse-Ladungs-Verhältnisses (m/z), mithilfe von elektrischen und magnetischen Feldern. (Schug, 2014; Matissek, Steiner und Fischer, 2018)

Ein System für die MS besteht grundlegend aus einem Einlass-System für die Probe, einer Ionenquelle, einem Massenanalysator und einer Registriereinheit, die das entsprechende massenspezifische Signal empfängt und verstärkt.

Das Einlass-System, welches die Probe in das Vakuumsystem führt, kann bei der GC-MS aus einer einfachen Verbindung, zum Beispiel einem Ionisationsdraht zwischen Probenzuführungs- und Ionisationssystem, bestehen. (Schug, 2014)

In der MS basiert die Fragmentierung der Analyten darauf, diese zunächst einmal zu ionisieren. (Ritgen, 2019)

Zur Ionisierung können je nach Probeneinlass verschiedene physikalische oder chemische Techniken angewendet werden. Erfolgt die MS nach einer gaschromatographischen Trennung, kann die Ionisierung, z.B. mittels Elektronenstoßionisation oder der chemischen Ionisierung, unmittelbar in der Gasphase durchgeführt werden. (Matissek, Steiner und Fischer, 2018)

Die Elektronenstoßionisation ist für flüchtige Verbindungen die wichtigste Methode. Außerdem ist es ein klassisches und universell anwendbares Verfahren. Für die Ionisation treffen auf die gasförmig vorliegenden Moleküle Elektronen mit einer kinetischen Energie von üblicherweise 70 eV. (Legrum, 2015; Karow, 2013)

Die Elektronen werden aus einer Glühkathode emittiert und durch eine Spannung von 70-100 V, welche zwischen Heizfaden und Anode anliegt, beschleunigt. (Harris, 2014)

Diese treffen senkrecht auf den Molekülstrahl (mit Probe) und bilden durch Stoßionisation hauptsächlich Radikalkationen, welche Molekülfragmente darstellen. Häufig sind bei diesem Ionisationssystem keine unzersetzten Moleküle mehr vorhanden, wodurch die Identifizierung der eigentlichen Analytsubstanz erschwert werden kann. Jedoch ist die EI vergleichsweise

unempfindlich gegenüber Matrixeffekten, d. h. bei der gleichzeitigen Ionisierung von mehreren unterschiedlichen Bestandteilen hat die Ionisierung eines Bestandteils in der Regel keine großen Auswirkungen auf die Ionisierung eines anderen Bestandteils. (Schug, 2014)

Das Prinzip der Elektronenstoßionisation ist in der Abbildung 3 dargestellt.

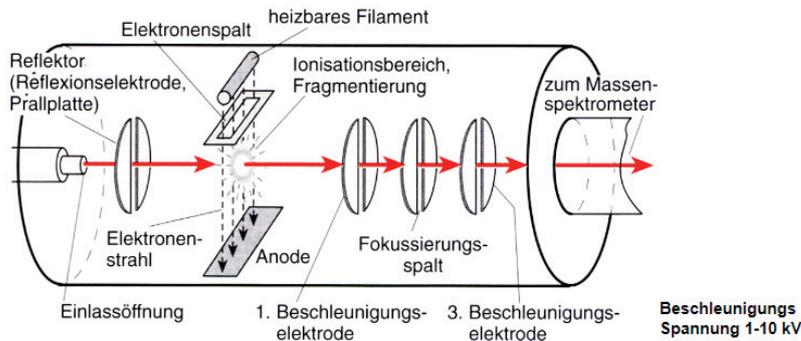


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Ionenquelle mit Elektronenstoßionisation (Instrumentelle Analytik Skript, 2021)

Die chemische Ionisation ist ein alternatives Verfahren, bei dem die Analyten nicht unmittelbar mit einem Elektronenstrahl in Wechselwirkung treten, sondern zunächst einmal ein Reaktand durch Elektronenstoß ionisiert wird. Hierfür werden meist leichte Kohlenwasserstoffe, wie Methan und Ethan oder andere einfache Verbindungen, wie Wasserstoff, Wasser oder Ammoniak, verwendet. (Ritgen, 2019)

Die ionisierten Moleküle treffen anschließend durch Beschleunigungselektroden auf den Eintrittsspalt eines Ionen-Analysators. In diesem werden die Massen m und die Ladungen z der Ionen analysiert. In der Lebensmittelanalytik kommen als Ionen-Analysatoren typischerweise Quadrupole oder Ionenfallen seltener Flugzeit-Analysatoren oder Hybrid-Massenspektrometer zum Einsatz.

Quadrupol-Ionen-Analysatoren bestehen aus vier konzentrischen, parallel zueinander angeordneten, Stabelektroden. Diese sind gegenüberliegend, paarweise an eine variable jeweils entgegengesetzt gepolte Gleichspannungsquelle, angeschlossen. Zusätzlich wird eine modulierbare Hochspannungsfrequenz überlagert, sodass nur Ionen mit einem bestimmten Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z) das Quadrupol auf einer stabilen Flugbahn (Massenfilter) passieren und zum Detektor gelangen. Bei Ionen, welche ein anderes Masse-Ladungs-Verhältnis besitzen, wird die Spiralbahn instabil. Diese werden dann entweder in das Zentrum des Quadrupols gezogen und dort abgeleitet oder verlassen die Spiralbahn nach außen und werden direkt von der Vakuumpumpe abgesaugt. Eine Darstellung von einem Quadrupol-Massenfilter ist in Abbildung 4 dargestellt.

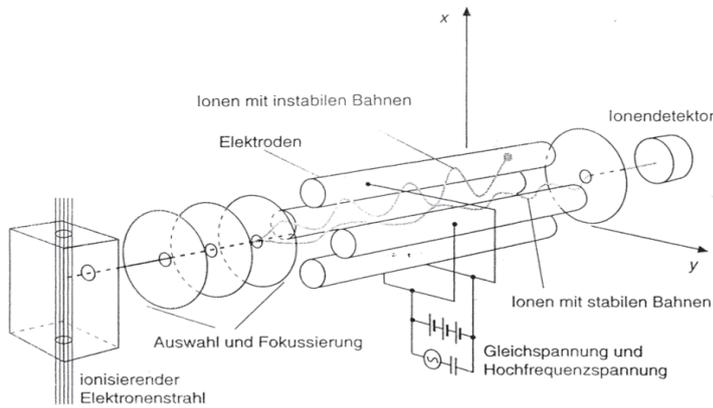


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Quadrupol-Massenfilters (Instrumentelle Analytik Skript, 2021)

Außerdem eignen sich Quadrupole gut zum Aufbau von Tandem-Systemen. Dabei besitzen MS/MS-(Tandem) Instrumente immer zwei oder mehrere Ionen-Analysatoren (Massenspektrometer), welche hintereinander geschaltet sind. Die Verwendung von drei Quadrupolen (Triple-Quadrupol) ist ein häufig angewendetes System. (Matissek, Steiner und Fischer, 2018)

Die Registrierung der Ionen erfolgt schließlich als letzter Schritt in einem Detektor. Für diesen gibt es wiederum mehrere Techniken. Das Auffangen der eintreffenden Ionen in einem kleinen Metallbecher (Faraday-Cup) ist die einfachste Methode. Dieser lädt sich elektrisch auf und dieses kann gemessen werden. Ein weiteres Verfahren, welches zu den Standard-Detektorsystemen der Massenspektrometrie zählt, ist der Sekundärelektronenvervielfacher. (Legrum, 2015)

Dieser arbeitet mit Dynoden, eine Elektrode mit einer bestimmten Spannung. Dadurch emittiert diese selbst, beim Auftreffen einer Ladung (Elektron oder Ion), Elektronen. Werden mehrere dieser Dynoden in Reihe geschaltet, dienen sie sowohl als Detektor als auch als Verstärker (Kaskadenverstärkung). Die Vorteile, welche sich somit erschließen sind eine hohe Nachweisempfindlichkeit, ein großer dynamischer Bereich und eine kurze Ansprechzeit für eine schnelle Registrierung. (Matissek, Steiner und Fischer, 2018)

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsplanung, Projektübersicht

Im nachfolgenden Fließschema ist die Projektübersicht dargestellt.

Relevante Duftstoffe festlegen → in Absprache mit dem Betrieb und einem Partnerlabor



Methode für Probenvorbereitung entwickeln



Spektren der Duftstoffe → Recherche in Datenbanken



Überprüfen der Spektren und Finden der Massenübergänge (ca. 3 wählen)



Einzelmethoden anpassen/ Massenübergänge prüfen/ Retentionszeiten prüfen



Einzelmethoden zusammenfassen



Methode in Referenzproben/Duftstoffgemischen testen und anpassen



Validierung der GC-MS-Methode

3.2 Verwendete Materialien

Die verwendeten Materialien und deren genaue Bezeichnung sind in der Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Liste der verwendeten Materialien

Materialien	Bezeichnung/Modell
Pipetten 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L	BRAND GmbH & CO.KG Otto-Schott-Straße 25 97877 Wertheim
Pipettenspitzen 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L	Sarstedt AG & CO.KG Sarstedtstraße 1 51588 Nümbrecht
Vials und Schraubkappen	Macherey-Nagel GmbH & Co.KG Valenciennes Straße 11 52355 Düren
PP- 50 ml- Zentrifugenröhrchen	Sarstedt AG & CO.KG Sarstedtstraße 1 51588 Nümbrecht
Cremebasis	Jean Pütz Produkte GmbH Virchowstraße 27 45886 Gelsenkirchen
Trennsäule	<ol style="list-style-type: none"> 1. DB-1MS UI Länge: 30 m Innendurchmesser: 0,25 mm Filmdicke: 0,25 μm Temperaturbereich: 60°C-340/360°C 2. DB-WAX UI Länge: 30 m Innendurchmesser: 0,25 mm Filmdicke: 0,25 μm Temperaturbereich: 20°C-250/260°C

	<p>3. HP-5MS UI Länge: 30 m Innendurchmesser: 0,25 mm Filmdicke: 0,25 µm Temperaturbereich: 60°C-325/350°C</p> <p>Agilent Technologies Germany GmbH & Co.KG Hewlett-Packard-Str. 8 76337 Waldbronn</p>
--	---

3.3 Verwendete Chemikalien und Duftstoffe

Für die durchgeführten Versuche wurden die Chemikalien und Duftstoffe verwendet, welche in der Tabelle 3 und 4 aufgeführt sind.

Tabelle 3: Liste der verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
n-Heptan	≥ 99,0 %	ChemSolute Th.Geyer GmbH & Co.KG.
Toluol	≥ 99,5 %	ChemSolute Th.Geyer GmbH & Co.KG.
Ethanol	≥ 99,9 %	ChemSolute Th.Geyer GmbH & Co.KG.
Methanol	≥ 99,9 %	ChemSolute Th.Geyer GmbH & Co.KG.

Tabelle 4: Liste der verwendeten Duftstoff-Standards

Probe	Interne Nummer	CAS-Nummer	Reinheit	Hersteller
Alpha-Isomethyl-Ionon	1564	127-51-5	≥ 90,0 %	HPC Standards GmbH 04451 Cunnersdorf
Amylzimtaldehyd	1551	122-40-7	≥ 97,0 %	
Amylzimtalkohol	1542	101-85-9	≥ 98,0 %	
Anisalkohol	1546	105-13-5	≥ 98,0 %	
Atranol	1669	526-37-4	≥ 99,2 %	
Benzylalkohol	1369	100-51-6	≥ 99,0 %	
Benzylbenzoat	940	120-51-4	≥ 98,0 %	
Benzylcinnamat	1545	103-41-3	≥ 98,0 %	
Benzylsalicylat	1553	118-58-1	≥ 98,5 %	
Chloratranol	1666	57074-21-2	≥ 98,0 %	Sigma Aldrich Chemie GmbH Riedstraße 2 89555 Steinheim
Citral	1559	5392-40-5	≥ 95,0 %	HPC Standards GmbH 04451 Cunnersdorf
Citronellol	1552	106-22-9	≥ 99,0 %	
Cumarin	1438	91-64-5	≥ 99,0 %	
Eugenol	1117	97-53-0	≥ 99,6 %	
Farnesol	1555	4602-84-0	≥ 95,0 %	
Geraniol	1543	106-24-1	≥ 98,5 %	
Hexylzimtaldehyd	1550	101-86-0	≥ 98,5 %	

Hydroxycitronellal	1556	107-75-5	≥ 94,0 %	
Isoeugenol	1548	97-54-1	≥ 99,0 %	
Lilial	1665	80-54-6	≥ 96,0 %	Sigma Aldrich Chemie GmbH Riedstraße 2 89555 Steinheim
Limonen	1670	138-86-3	≥ 96,9 %	HPC Standards GmbH 04451 Cunnersdorf
Linalool	1547	78-70-6	≥ 97,0 %	
Lyräl	1537	31906-04-4	≥ 97,0 %	
Majantol	1562	103694-68-4	≥ 98,0 %	
Methyleugenol	1116	93-15-2	≥ 98,0 %	
Methylheptincarbonat	1544	111-12-6	≥ 97,0 %	
Zimtaldehyd	1554	104-55-2	≥ 95,0 %	
Zimtalkohol	1549	104-54-1	≥ 96,0 %	

3.4 Verwendete Geräte

Die, für die Durchführung der Versuche, verwendeten Geräte sind in der Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Liste der verwendeten Geräte

Geräte	Modell/Hersteller
Triple Quad GC/MS	7000C Agilent Technologies Germany GmbH & Co.KG Hewlett-Packard-Str. 8 76337 Waldbronn
Autosampler	7693 Agilent Technologies Germany GmbH & Co.KG Hewlett-Packard-Str. 8 76337 Waldbronn
GC-System	7890B Agilent Technologies Germany GmbH & Co.KG Hewlett-Packard-Str. 8 76337 Waldbronn
Präzisionswaage	Mettler-Toledo GmbH Ockerweg 3 35396 Gießen
Analysewaage	TE214S-0CE Sartorius AG Otto-Brenner-Str.20 37079 Göttingen
Schüttler	Collomix GmbH Daimlerstraße 9 85080 Gaimersheim

Ultraschallbad	Sonorex Bandelin electronic GmbH & CO.KG Heinrichstraße 3-4 12207 Berlin
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 16 Thermo Fisher Scientific GmbH Im Heiligen Feld 17 58239 Schwerte

3.5 Verwendete GC- und MS-Einstellungen

3.5.1 Einstellungen: Erste Analysen und Tuning

Die ersten Versuche und das Tuning wurden mittels einer DB-Wax- und einer DB-1-Säule (Punkt 3.2) durchgeführt. Dafür wurden nachfolgende Temperaturprogramme, ein Injektionsvolumen (Splitless-Modus) von 2 µl, eine Einlasstemperatur von 250°C und ein konstanter Heliumträgergasfluss von 1,4 ml/min verwendet. Für die ersten Versuche wurde der Scan-Modus des MS-Gerätes eingestellt, bei diesem Modus werden alle Massen von 30 - 270 m/z aufgezeichnet. Das Tuning erfolgte mittels des Product-Ionen-Modus, bei welchem eine gewählte Masse mit einer gewählten Kollisionsenergie zusammenstößt.

Tabelle 6: Temperaturprogramm der ersten Analysen und beim Tuning mittels DB-WAX-Säule

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		80	0,5	0,5
Ramp 1	25	250	5	12,3
Post Run: 250°C - 1 min				

Tabelle 7: Temperaturprogramm der ersten Analysen und beim Tuning mittels DB-1-Säule

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		80	0,5	0,5
Ramp 1	25	300	5	14,3
Post Run: 300°C - 1 min				

3.5.2 Einstellungen: Prüfen der Retentionszeiten

Das Prüfen der Retentionszeiten erfolgte mit einer DB-1-Säule (Punkt 3.2) mittels einer GC-FID. Es wurde das in der Tabelle 8 dargestellte Temperaturprogramm, ein Injektionsvolumen (Splitless-Modus) von 2 µl und ein konstanter Heliumträgergasfluss von 1,4 ml/min verwendet. Die injizierten Analyten wurden auf eine Konzentration von 200 mg/l eingestellt.

Tabelle 8: Temperaturprogramm bei der GC-FID unter Verwendung einer DB-1-Säule

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		60	2	2
Ramp 1	5	150	0	20
Ramp 2	10	200	0	25
Ramp 3	20	300	0	30
Post Run: 300°C - 0 min				

3.5.3 Einstellungen: Versuche mit der DB-1-Säule

Die in der GC-MS/MS verwendete DB-1-Säule besitzt die gleichen Eigenschaften, wie die zuvor, bei der GC-FID verwendeten, DB-1-Säule. Es handelt sich dabei um dieselbe Säule, welche zuvor bei den ersten Analysen und beim Tuning verwendet wurde. Das in der Tabelle 9 dargestellte Temperaturprogramm, ein Injektionsvolumen (Splitless-Modus) von 2 µl, eine Einlasstemperatur von 300°C und ein konstanter Heliumträgergasfluss von 1,4 ml/min wurden verwendet. Das MS-Gerät wurde mit dem MRM-Modus betrieben, bei welchem das Gerät mittels eingegebenen Massenübergängen mit dazugehörigen Kollisionsenergien den Analyten untersucht.

Tabelle 9: Temperaturprogramm für Versuche mit der DB-1-Säule (wie bei der GC-FID)

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		60	2	2
Ramp 1	5	150	0	20
Ramp 2	10	200	0	25
Ramp 3	20	300	0	30
Post Run: 300°C - 1 min				

3.5.4 Einstellungen: Versuche mit der HP-5-Säule

Die Versuche, welche mit einer HP-5-Säule (Punkt 3.2) durchgeführt wurden, erfolgten alle mit dem Temperaturprogramm aus der Tabelle 10, einem Injektionsvolumen (Splitless-Modus) von 1 µl, einer Einlasstemperatur von 280°C und einem konstanten Heliumträgergasfluss von 1 ml/min. Das MS-Gerät wurde im Scan-Modus und im MRM-Modus verwendet.

Tabelle 10: Temperaturprogramm für Versuche mit der HP-5-Säule

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		80	1	1
Ramp 1	4	200	5	36
Ramp 2	20	280	5	45
Post Run: 280 °C - 1 min				

3.5.5 Einstellungen: Versuche mit der DB-WAX-Säule/ Endeinstellungen

Die Versuche, welche mit einer DB-WAX-Säule (Punkt 3.2) durchgeführt wurden, erfolgten alle mit dem Temperaturprogramm aus der Tabelle 11, einem Injektionsvolumen (Splitless-Modus) von 2 µl, einer Einlasstemperatur von 250°C und einem konstanten Heliumträgergasfluss von 1,4 ml/min. Das MS-Gerät wurde im Scan-Modus und im MRM-Modus verwendet.

Tabelle 11: Temperaturprogramm für Versuche mit der DB-Wax-Säule/finale Methode

	Rate: °C/min	Value: °C	Hold Time: min	Run Time: min
(Initial)		60	2	2
Ramp 1	10	250	5	26
Post Run: 250 °C - 1 min				

3.6 Versuchsdurchführung

3.6.1 Extraktion der Duftstoffe aus Kosmetikprodukten/ Probenvorbereitung

Aufgrund der Deklarationspflicht von Duftstoffen ab einer Konzentration von 10 ppm oder 100 ppm sind in den späteren Proben eher hohe Duftstoffkonzentrationen zu erwarten. Es gibt keine Höchstkonzentrationen der Duftstoffe, daher variieren die Anteile je nach Land und Hersteller.

Zur Schonung des MS-Gerätes sollten die Proben nach der Aufarbeitung weiter verdünnt werden. Als Grundlage für die Extraktionsmethode der Duftstoffe aus Kosmetikprodukten wurde die interne Probenvorbereitung für die Konservierungsmittelanalyse in Kosmetik verwendet.

Es wurden 2 g einer Creme Basis in ein 50 ml PP-Zentrifugenröhrchen eingewogen, mit den Gesamtduftstoffstandard dotiert und mit 20 ml Lösungsmittel vermengt. Das Gemisch wurde anschließend 5 min geschüttelt und 10 min in ein Ultraschallbad gestellt. Abschließend wurde das Ganze 5 min bei 3500 UPM zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Die Extraktionsmethode wurde mit den Lösungsmitteln Heptan und Methanol getestet.

Abschließend wurde geprüft, ob die Methode der Probenvorbereitung auch für andere Produktgruppen anwendbar ist.

3.6.2 Massenspektren der Duftstoffe

Die Datenaufnahme in Massenspektrometern wird generell zwischen der Aufnahme eines Spektrenbereiches (full scan) und der Registrierung von einzelnen Massen (SIM - single ion monitoring oder MID - multiple ion detection) unterschieden. (Bruchmann, Lahaniatis, Schwabe, Tschichardt und Kettrup, 2012)

Dabei erfolgt die Darstellung in einem Totalionenstromdiagramm, welches die Summe aller Massenspektren beinhaltet. (Kannenberg, 2021)

Hinter jedem Datenpunkt dieser Darstellung verbirgt sich eine massenspektrometrische Information. Die zu diesem Zeitpunkt gemessene Ionenmenge wird durch die Anwahl eines Datenpunktes gezeigt. Die Ionenmenge setzt sich aus den Ionen der Probe und dem Untergrund zusammen.

Dabei wird das Massenspektrum von einem Stoff als zweidimensionale Information von Ionenhäufigkeit versus Masse-zu-Ladung-Verhältnis dargestellt. (DGMS, 2021)

Vor der Durchführung der ersten Versuche wurde, in Absprache mit dem Betrieb und einem Partnerlabor, festgelegt, dass die zu entwickelnde Methode 28 Duftstoffe beinhalten soll. Bei

diesen handelt es sich um die 26 deklarationspflichtigen Duftstoffe, sowie Majantol und Methyleugenol. Für die deklarationspflichtigen Duftstoffe Eichen- und Baummoosextrakt wurden die Indikator Duftstoffe Atranol und Chloratranol verwendet.

Danach erfolgte die Recherche nach den Massenspektren der Duftstoffe, in online Datenbanken. Dafür wurden die Datenbank des *National Institute of Standards and Technology* (NIST) und die der *National Library of Medicine* verwendet. Mit Hilfe dieser Grundlage konnten die detektierten Massenspektren der Duftstoffe verglichen werden. Somit erfolgte eine Absicherung, dass es sich um die gewollten Duftstoff handelt. Die Detektion erfolgte im Scan-Modus, das heißt die Aufnahme von vollständigen Massenspektren. Dabei sollte im Totalionenchromatogramm ein einzelner Peak dargestellt sein. Hinter diesem befindet sich das Massenspektrum des untersuchten Duftstoffes, welches mit dem aus der Literatur übereinstimmen sollte. Außerdem wurden bei diesen Versuchen die jeweiligen vorläufigen Retentionszeiten, der einzelnen Duftstoffe, notiert.

Für die Scan-Methode wurden Verdünnungen der Duftstoff-Standards in einer Konzentration von 10 mg/l verwendet, welche nacheinander analysiert wurden. Die Verdünnungen wurden mit Heptan hergestellt, nachdem alle Duftstoffe in Toluol gelöst und auf eine Konzentration von 200 mg/l eingestellt wurden. Die Injektion erfolgte mittels eines Multi-Mode-Injektors, welcher 2 µl der Verdünnung injiziert.

Die Trennung erfolgte auf einer DB-Wax-Säule und einer DB 1-Säule. Da sich in dem GC-MS/MS-Gerät für den betrieblichen Alltag eine DB-Wax-Säule befindet, erfolgte auf dieser zunächst der Scan von 7 Duftstoff-Standards. Diese sind Zimtaldehyd, Zimtalkohol, Benzylalkohol, Anisalkohol, Eugenol, Methyleugenol und Isoeugenol. Da es sich dabei um eher kleinere Moleküle handelt, war ein Temperaturprogramm bis 250°C ausreichend. Der Scan der restlichen 21 Standards erfolgte auf der DB 1-Säule, da angenommen wurde, dass ein höheres Temperaturprogramm für die Analyse notwendig ist.

Die Temperaturprogramme und die Einstellungen sind dem Punkt 3.5.1 zu entnehmen.

3.6.3 Tuning der Duftstoffe

Nach dem erfolgreichen Scan der Duftstoff-Standards ist der nächste Schritt das Tuning. Dieses ist wichtig, um die spezifischen Massenübergänge jedes einzelnen Stoffes zu identifizieren, damit eine spezifische Detektion in einem Stoffgemisch, z.B. Kosmetik, möglich ist.

Beim Tuning werden die spezifischen Massenübergänge mit der passenden Kollisionsenergie ermittelt. Dafür werden die *precursor-ionen* mit der größten relativen Intensität, welche aus dem Scan ermittelt wurden, einer Kollisionsenergie von 10 eV und 30 eV ausgesetzt. Diese Energien wurden gewählt, um zunächst einen möglichst weiten Bereich der CE zu testen. Die Versuche wurden im Scan-Typ Product-Ion durchgeführt. Die weiteren Einstellungen entsprechen denen aus Punkt 3.5.1. Nachdem die Produktionen der jeweiligen *precursor-ionen* bestimmt wurden, erfolgte die Bestimmung der bestmöglichen Kollisionsenergie. Diese ist wichtig, um eine möglichst große Empfindlichkeit für den Nachweis und die Quantifizierung der einzelnen Duftstoffe zu gewährleisten. Die CE, welche im vorherigen Screening die größte absolute Peakfläche (PF) erzielt hat, wird nun einem *Fine-tuning* unterzogen. Dabei wird durch kleinere Abstufungen ermittelt, ob eine der Abstufungen eine höhere Intensität der Tochterfragmente erzielt.

Die verwendeten Abstufungen der CE ist in der Tabelle 12 dargestellt. Dabei war eine Kollisionsenergie von 40 maximal möglich.

Tabelle 12: Abstufungen der Kollisionsenergie

bei einem stärkeren Signal bei 10	bei einem stärkeren Signal bei 30
10	25
15	30
20	35
25	40

Diese Versuche wurden mit dem Scan-Typ MRM durchgeführt. Dabei blieben die restlichen Einstellungen wie im Punkt 3.5.1.

(Futh, 2015; Bruchmann, Lahaniatis, Schwabe, Tschichardt und Kettrup, 2012)

3.6.4 Prüfen der Retentionszeiten

Die Retentionszeit beschreibt die Zeit, welche ein Analyt für das Passieren der Säule benötigt. Also die Zeitdifferenz zwischen Injektion und Detektion.

Die Retentionszeiten, welche in Punkt 3.6.3 ermittelt wurden, zeigen zunächst die zu erwartende Detektionsreihenfolge der Duftstoffe. Diese Reihenfolge sollte auch beim Verändern der Methode gleich bleiben. Lediglich die Retentionszeiten werden länger oder kürzer. Somit sind die Reihenfolge und die Retentionszeiten für spätere Analysen hilfreiche Anhaltspunkte bei der Auswertung.

Die Überprüfung der Detektionsreihenfolge aus Punkt 3.6.3 erfolgte mittels einer GC-FID. Diese Methode wurde gewählt, da sie nicht jede Masse aufzeichnet, sondern es lediglich zu einem Signal kommt, wenn das Eluat in einem Gemisch aus H₂ und Luft im Detektor verbrannt wird. Da die Retentionszeiten, welche im Punkt 3.6.3 ermittelt wurden, dicht beieinander lagen, wurde das Temperaturprogramm für die GC-FID-Analyse verlängert. Dieses bewirkt auch, dass die Duftstoffe in einem späteren Duftstoffgemisch auch wirklich voneinander getrennt werden können.

Die Versuchsreihe erfolgte mit dem Temperaturprogramm und den Einstellungen, welche in Punkt 3.5.2 beschrieben sind. Jeder Duftstoff (c = 200 mg/l) wurde dabei einzeln analysiert.

3.6.5 Zwischenfazit: Prüfen der Retentionszeiten

Die Prüfung der Retentionszeiten erfolgte, wie in Punkt 3.6.4 beschrieben. Die Auswertung der Messdaten wurde mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ) durchgeführt. Nach der Auswertung ergaben sich die Detektionsreihenfolge und Retentionszeiten, welche in der Tabelle 13 dargestellt sind. Es ist zu sehen, dass die Trennung und Detektion von allen Duftstoffen erfolgreich war.

Tabelle 13: Ermittelte Retentionszeiten und Detektionsreihenfolge mit einer GC-FID-Methode

Nr.	Duftstoff	Retentionszeit [min]	Duftstoff	Retentionszeit [min]
1 / 15	Benzylalkohol	8,62	Majantol	18,8
2 / 16	Limonen	9,13	Isoeugenol	19,58
3 / 17	Linalool	10,81	Chloratranol	20,56
4 / 18	Methylheptincarboxat	13,17	Alpha-Isomethyl-Ionon	20,66
5 / 19	Citronellol	14,23	Lilial	21,33
6 / 20	Citral	14,34	Atranol	21,7
7 / 21	Zimtaldehyd	14,74	Amylzimtaldehyd	23,45
8 / 22	Geraniol	14,89	Amylzimtalkohol	23,44
9 / 23	Anisalkohol	15,13	Lyril	23,56
10 / 24	Hydroxycitronellal	15,37	Farnesol	24,36
11 / 25	Zimtalkohol	15,84	Hexylzimtaldehyd	24,87
12 / 26	Eugenol	17,32	Benzylbenzoat	24,94
13 / 27	Methyleugenol	18,41	Benzylsalicylat	26,13
14 / 28	Cumarin	18,68	Benzylcinnamat	27,78

3.6.6 Methodenentwicklung

3.6.6.1 Optimierung der Massenübergänge mittels einer DB-1-Säule

Nach der erfolgreichen Auswertung der Versuchsreihe zur Prüfung der Retentionszeiten (Punkt 3.6.5), hat man nun die nötigen Informationen und Sicherheiten für die weitere Methodenentwicklung. Mit Hilfe der ermittelten Retentionszeiten wurde nun, für jeden Duftstoff, eine einzelne MRM-Methode erstellt. Diese Methoden beinhalten für jeden Duftstoff alle, während des Tunings ermittelten, Massenübergänge (Siehe Anlage 1). Die Analyse erfolgte dabei mit dem Temperaturprogramm und den Einstellungen, welche im Punkt 3.5.3 beschrieben sind. Es wurde von jedem Duftstoff 1 ml einer Verdünnung, mit einer Konzentration von 100 µg/l, hergestellt. Danach erfolgte die Injizierung von jeweils 2 µl einer Verdünnung und die anschließende Analyse.

3.6.6.2 Zwischenfazit: Optimierung der Massenübergänge mittels einer DB-1-Säule

Die Versuchsreihe wurde wie in Punkt 3.6.6.1 beschrieben durchgeführt und die Analysedaten mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ) ausgewertet. Bei der Auswertung wurden, nun für jeden Duftstoff, die größten und störungsfreisten Massenübergänge gewählt. Die gewählten Übergänge, nach ihrer Größe absteigend sortiert, sind der Anlage 2 zu entnehmen. In der Anlage ist zu erkennen, dass sieben Duftstoffe rot unterlegt sind. Bei diesen entstand bei der Analyse entweder kein Peak oder ein sehr gestörter und nicht eindeutiger Peak. Aus diesem Grund sind bei diesen Duftstoffen keine Massenübergänge aufgelistet. Bei diesen Duftstoffen handelt es sich um Isoeugenol, Chloratranol, Atranol, Geraniol, Farnesol, Zimtalkohol und Amylzimtalkohol.

3.6.6.3 Erstellen einer Gesamtmethode mittels einer DB-1-Säule

Im nächsten Schritt wurden die Massenübergänge mit den größten und störungsfreisten PF jedes Duftstoffes, welche aus dem Punkt 3.6.6.2 hervorgingen, in eine MRM-Methode übertragen. Aufgrund der Probleme mit Isoeugenol, Chloratranol, Atranol, Geraniol, Amylzimtalkohol, Farnesol und Zimtalkohol, welche sich bei der Auswertung der Versuchsreihe aus 3.6.6.1 aufzeigten, gingen bei diesen keine größten und störungsfreisten PF hervor. Dementsprechend wurden bei den Duftstoffen Isoeugenol, Zimtalkohol, Chloratranol und Atranol alle im Tuning ermittelten Massenübergänge in die Methode übertragen. Bei den Duftstoffen Farnesol, Amylzimtalkohol und Geraniol ergaben sich im Tuning zu viele Massenübergänge, sodass bei

denen die Massenübergänge gewählt wurden, welche dort das stärkste Signal aufwiesen. Die gewählten Massenübergänge sind der Tabelle 14 zu entnehmen.

Zudem wurden die Duftstoffe in Gruppen eingeteilt, beruhend auf ihre Retentionszeiten. Dieses erleichtert dem Massenspektrometer die Detektion, da es nur in den eingeteilten Zeitintervallen nach den vorgegebenen Massenübergängen suchen muss. Die Gruppeneinteilung ist der Tabelle 15 zu entnehmen. Außerdem wurde für jede Gruppe die Analysezeit auf 5 cycles/s eingestellt.

Für die Versuche mit dieser Methode, welche nun jeden Duftstoff mit den spezifischen Massenübergängen beinhaltet, wurden Duftstoffgemische mit verschiedenen Konzentrationen hergestellt. Diese beinhalten alle Duftstoffe, welche jeweils in den Konzentrationen 1 mg/l, 500 µg/l, 250 µg/l und 100 µg/l vorliegen. Die Einstellungen entsprechen den gleichen, wie in Punkt 3.5.3 beschrieben.

Tabelle 14: Verwendete Massenübergänge der Duftstoffe für die Methode mittels der DB-1-Säule

Duftstoff	Massenübergang (CE)	Duftstoff	Massenübergang (CE)
Benzylalkohol	108 → 79 (10) 107 → 77 (30) 107 → 79 (10)	Majantol	106 → 91 (10) 106 → 65 (30) 91 → 65 (25) 178 → 106 (10)
Limonen	121 → 93 (10) 136 → 93 (10) 121 → 77 (30)	Isoeugenol	164 → 149 (10) 164 → 103 (20) 131 → 103 (20)
Linalool	121 → 93 (10) 93 → 77 (10) 93 → 51 (30)	Chloratranol	185 → 65 (20) 140 → 77 (10) 140 → 51 (30) 185 → 129 (15)
Methylheptincarboxat	123 → 67 (10) 123 → 55 (10) 123 → 41 (30)	Alpha-Isomethyl-Ionon	150 → 135 (10) 135 → 91 (15) 135 → 79 (15) 135 → 107 (10)

Citronellol	123→ 81 (10) 95 → 67 (10) 95 → 55 (10)	Lilial	189→ 131 (10) 189→ 91 (30) 131→ 91 (15) 189→ 117 (30)
Citral	94 → 79 (10) 109 → 81 (10) 109 → 94 (10)	Atranol	152 → 106 (30) 152 → 67 (30) 151 → 95 (10) 106 → 77 (10)
Zimtaldehyd	131→ 77 (30) 103→ 77 (10) 131→ 103 (10)	Amylzimtaldehyd	117→ 91 (30) 129→ 77 (40) 117→ 65 (35) 202→ 91 (40)
Geraniol	69 → 41 (10) 93 → 77 (10) 93 → 51 (30)	Lyrall	136→ 79 (10) 136→ 91 (30) 136→ 117 (10)
Anisalkohol	138 → 109 (5) 109 → 77 (15) 109 → 94 (15) 121→ 78 (25)	Amylzimtalkohol	115→ 89 (30) 115→ 63 (30) 129→ 77 (35) 129→ 102 (30)
Hydroxycitronellal	59 → 43 (25) 71 → 53 (10) 139 → 121 (10) 139 → 43 (10)	Farnesol	69→ 41 (10) 93→ 77 (10) 136→ 121 (10) 161→ 81 (10)
Zimtalkohol	92→ 65 (30) 105→ 77 (25) 115→ 89 (20) 134→ 92 (10)	Hexylzimtaldehyd	145→ 117 (10) 145→ 91 (30) 215→ 145 (15) 215→ 115 (30)

Eugenol	164 → 149 (10) 131 → 77 (30) 164 → 103 (20)	Benzylbenzoat	105 → 77 (10) 194 → 165 (20) 212 → 167 (15) 212 → 105 (15)
Methyleugenol	178 → 107 (10) 178 → 163 (20) 178 → 147 (30) 109 → 107 (10)	Benzylsalicylat	228 → 91 (10) 91 → 65 (10) 91 → 51 (30)
Cumarin	146 → 118 (10) 146 → 89 (30) 118 → 90 (10) 118 → 63 (35)	Benzylcinnamat	131 → 77 (30) 131 → 103 (10) 192 → 165 (35) 192 → 115 (30)

Tabelle 15: Analysegruppen der Duftstoffe, entsprechend der Retentionszeiten auf der DB-1-Säule

Gruppe	Retentionszeiten	Duftstoffe	Anzahl der Stoffe
1	7-12 min.	Benzylalkohol	3
		Limonen	
		Linalool	
2	12-15 min.	Methylheptincarboxat	5
		Citronellol	
		Citral	
		Zimtaldehyd	
		Geraniol	

3	15-17 min.	Anisalkohol	3
		Hydroxycitronellal	
		Zimtalkohol	
4	17-19 min.	Eugenol	4
		Methyleugenol	
		Cumarin	
		Majantol	
5	19-23 min.	Isoeugenol	5
		Chloratranol	
		Alpha-Isomethyl-Ionon	
		Lilial	
		Atranol	
6	23-24 min.	Amylzimtaldehyd	3
		Lyral	
		Amylzimtalkohol	
7	24-30 min.	Farnesol	5
		Hexylzimtaldehyd	
		Benzylbenzoat	
		Benzylsalicylat	
		Benzylcinnamat	

3.6.6.4 Zwischenfazit: Erstellen einer Gesamtmethode mittels einer DB-1-Säule

Die Durchführung der Versuchsreihe erfolgte wie in Punkt 3.6.6.3 beschrieben. Danach erfolgte die Auswertung mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ).

Die Duftstoffe, welche in der Tabelle 16 aufgelistet sind, konnten, bei einer Konzentration von 100 µg/l, detektiert werden und es ergab sich ein eindeutiger und störungsfreier Peak.

Tabelle 16: Auflistung der Duftstoffe: bei 100 µg/l eindeutiger Peak bei Detektion mit der DB-1-Säule

Nr.	Duftstoff	Duftstoff
1/2	Limonen	Linalool
3/4	Alpha-Isomethyl-Ionon	Majantol
5/6	Lilial	Amylzimtaldehyd
7/8	Hexylzimtaldehyd	Methyleugenol
9/10	Benzylbenzoat	Benzylcinnamat

Bei den Duftstoffen Lyril, Cumarin und Amylzimtalkohol entstand erst bei einer Konzentration von 250 µg/l ein gewünschter, symmetrischer, eindeutiger und störungsfreier Peak.

Bei einer Konzentration von 500 µg/l erfolgte die Detektion mit einem symmetrischen, eindeutigen und störungsfreien Peak bei Eugenol, Methylhepatincarbonat, Citronellol, Hydroxycitronellal, Anisalkohol und Farnesol. Ein symmetrischer, eindeutiger und störungsfreier Peak entstand bei Benzylalkohol, Isoeugenol, Citral, Geraniol und Zimtaldehyd, bei einer Konzentration des Gesamtgemisches von 1 mg/l. Bei den Duftstoffen Chloratranol, Atranol, Benzylsalicylat und Zimtalkohol entstand bei keinen der getesteten Konzentration des Gesamtgemisches ein symmetrischer, eindeutiger und störungsfreier Peak. Somit können diese Duftstoffe mittels einer DB-1-Säule nicht detektiert werden, da bereits höhere Konzentrationen den MS auf Dauer schädigen und es zu einem höheren Verschleiß kommt.

3.6.6.5 Optimierung der Säule: Verwendung einer HP-5-Säule

Aufgrund der Probleme bei der Detektion, vor allem mit den Duftstoffen Atranol und Chloratranol, wurden, nach einer Literaturrecherche, weitere Versuche auf einer HP 5-Säule durchgeführt. Zuerst wurden Atranol und Chloratranol neu eingewogen und in Toluol gelöst. Es wurden jeweils 10 ml einer Lösung mit der Konzentration von 200 mg/l hergestellt.

Die Versuchsreihe auf der HP-5-Säule wurde mit dem Temperaturprogramm und den Einstellungen durchgeführt, welche in Punkt 3.5.4 beschrieben sind.

Da sich aufgrund der veränderten Methode die Retentionszeiten der Duftstoffe ändern, wurde zunächst jeder Duftstoffstandard einzeln, mit einer Konzentration von 10 mg/l, erneut im Scan-Modus analysiert.

Anschließend wurden von allen Duftstoffstandards Verdünnungen mit einer Konzentration von 100 µg/l hergestellt und diese jeweils einzeln mit der erstellten Methode analysiert. Es handelte sich dabei um MRM-Methoden, welche die zuvor ermittelten Massenübergänge der einzelnen Stoffe beinhalteten.

3.6.6.6 Zwischenfazit: Versuchsreihe unter Nutzung einer HP-5-Säule

Nachdem das Wechseln der Säule von einer DB-1-Säule auf eine HP-5-Säule erfolgt ist, wurde die Versuchsreihe, welche in Punkt 3.6.6.5 beschrieben ist, durchgeführt. Die Auswertung der Analysedaten erfolgte danach mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ).

Dabei ergab sich, dass auch mit dieser Säule 10 von 28 Duftstoffen, bei einer Konzentration des Gesamtgemisches von 1 mg/l, nicht gut detektiert werden können, da keine symmetrischen und störungsfreien Peaks entstanden sind. Diese Duftstoffe sind Zimtaldehyd, Geraniol, Anisalkohol, Zimtalkohol, Cumarin, Isoeugenol, Chloratranol, Atranol, Lyral und Farnesol. Die entstandenen Peaks dieser Stoffe, bei den Konzentrationen von 200 µg/l und 1 mg/l, sind in der Anlage 3 dargestellt.

Im Vergleich zur Detektion mit der DB-1-Säule wurde bei der Detektion mit der HP-5-Säule eine Verbesserung der Peaks bei Benzylalkohol, Methylheptincarboxat, Citronellol, Citral, Hydroxycitronellal, Eugenol, Amylzimtalkohol und Benzylsalicylat festgestellt.

Es ist zu erkennen, dass die Duftstoffe schwer zu detektieren sind, welche zuvor bereits ein Problem bei der Detektion mit der DB-1-Säule darstellen. Dieses lässt sich erklären, da es sich bei der DB-1-Säule und der HP-5-Säule um sehr ähnliche unpolare Säulen handelt.

Durch die Veränderung des Temperaturprogramms und der Säule haben sich zudem die Retentionszeiten der Duftstoffe verkürzt. Die Retentionszeiten wurden, wie in Punkt 3.6.6.5 beschrieben, ermittelt und sind der Anlage 4 zu entnehmen.

3.6.6.7 Optimierung der Säule: Verwendung einer DB-Wax-Säule

Da es sich bei der DB-1- und HP-5-Säule um sehr ähnliche unpolare Säulen handelt, wurde nun mit der DB-Wax-Säule eine komplett andere Säule verwendet. Die DB-Wax-Säule enthält als stationäre Phase Polyethylenglycol und besitzt somit eine hohe Polarität.

Die in Punkt 3.5.5 beschriebenen Einstellungen und das Temperaturprogramm wurden für die Versuchsreihe mit der DB-Wax-Säule verwendet.

Da sich nun erneut die Retentionszeiten durch eine veränderte Methode ändern, wurde zunächst jeder Duftstoffstandard einzeln, mit einer Konzentration von 10 mg/l, erneut im Scan-Modus analysiert.

Anschließend wurde jeder Duftstoffstandard ($c = 100 \mu\text{g/l}$) einzeln injiziert und mit der erstellten Methode analysiert. Es handelte sich dabei um eine MRM-Methode, welche alle zuvor ermittelten Massenübergänge der einzelnen Stoffe beinhaltet.

3.6.7 Erstellen der endgültigen Methode

Aus den vorherigen Versuchen ging hervor, dass die DB-Wax-Säule die geeignetste Säule für die Analyse von Duftstoffen ist. Mit dieser Säule wurde nun die endgültige Methode erstellt. Dafür wurden die signifikantesten Massenübergänge jedes Duftstoffes aus Punkt 3.6.6.7 gewählt. Zudem wurden die Duftstoffe nach ihrer Retentionszeit, aus dem selbigen Punkt, in Gruppen eingeteilt. Die Verweilzeit in den einzelnen Gruppen wurde so eingestellt, dass sich 5 Zyklen/Sek ergeben. Die restlichen Einstellungen entsprechen denen, wie in Punkt 3.5.5 beschrieben. Die erstellte Methode wurde nun in einem Mix-Standard, welcher jeden Duftstoff in einer Konzentration von $100 \mu\text{g/l}$ beinhaltet, getestet

3.6.8 Erstellen der Kalibrationsgeraden

Nach dem erfolgreichen Erstellen einer geeigneten Methode, erfolgt nun das Erstellen der jeweiligen Kalibrationsgeraden. Es wurden 10 ml eines Mix-Standards, welcher alle 28 Duftstoffe in einer Konzentration von 1 mg/l enthält, hergestellt. Aus diesem wurde nun eine Verdünnungsreihe (1 mg/l, 750 µg/l, 500 µg/l, 250 µg/l, 100 µg/l, 75 µg/l, 50 µg/l, 25 µg/l, 10 µg/l) hergestellt. Jede Konzentration wurde einzeln injiziert und analysiert. Die verwendete Methode entspricht der, welche in Punkt 3.6.7 beschrieben wurde.

3.6.9 Methodvalidierung

3.6.9.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Unter der Nachweisgrenze versteht man den niedrigsten Wert, bei dem das Vorhandensein einer Substanz als nachgewiesen gilt. Eine höhere Genauigkeit besitzt hingegen die Bestimmungsgrenze. Diese ist die kleinste Konzentration eines Analyten, die quantitativ mit einer festgelegten Präzision bestimmt werden kann. Quantitative Analyseergebnisse werden erst oberhalb dieser Grenze angegeben, daher werden möglichst niedrige Grenzen angestrebt.

Es wird zwischen analytischen und methodischen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen unterschieden.

Die Bestimmung der analytischen Grenzen erfolgt mittels der Leerwertmethode, nach DIN 32645. Für diese wurde eine Verdünnungsreihe aus einem Gesamtstandardmix, welcher jeden der 28 Duftstoffe enthält, hergestellt. Es wurden die Konzentration 1 mg/l, 750 µg/l, 500 µg/l, 250 µg/l, 100 µg/l, 75 µg/l, 50 µg/l, 25 µg/l und 10 µg/l hergestellt und anschließend mit der Methode aus Punkt 3.5.5.5 analysiert. Die Auswertung erfolgte mit der Analytik-Software Valoo. Dabei wurde eine relative Ergebnisunsicherheit von 33 % ($k=3$) und ein Signifikanzniveau (α) von $\alpha = 0,01$ gewählt.

Für die Bestimmung der methodischen Grenzen wurde eine hautähnliche Cremebasis, welche bis zu 10 % weitere Wirkstoffe aufnehmen kann, mit den 28 Duftstoffen, auf eine Konzentration von 1 mg/kg, dotiert und aufgearbeitet (Punkt 3.6.1). Dieses erfolgte als 6-fach Bestimmung, bei welcher alle 6 Proben an einem Tag aufgearbeitet und gemessen wurden.

Für die Bestimmung der methodischen Nachweisgrenzen wurde die ermittelte Standardabweichung, der 6 Proben, mit 3 multipliziert. Die methodische Bestimmungsgrenze ergab sich aus der Standardabweichung multipliziert mit 6.

3.6.9.2 Wiederholbarkeit

Unter der Wiederholbarkeit versteht man die Fähigkeit einer Gerätes oder Systems, unter Wiederholungsbedingungen nahe beieinanderliegende Ergebnisse zu erzeugen. Die Standardabweichung und der Variationskoeffizient (Abweichungskoeffizient) sind Maßzahlen der Wiederholbarkeit.

Für die Bestimmung der Wiederholbarkeit wurden 12 dotierte Proben mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen (6 mal 1 mg/kg und 6 mal 5 mg/kg) an einem Tag unter Wiederholbedingungen aufgearbeitet und gemessen. Von den ermittelten Daten wurden jeweils die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten berechnet. Für den Variationskoeffizient wurde ein maximaler Wert von 30 % festgelegt.

3.6.9.3 Reproduzierbarkeit

Unter dem Begriff Reproduzierbarkeit versteht man die Möglichkeit, etwas zu wiederholen bzw. etwas wiederholt herzustellen. Für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit der entwickelten Methode wurden zwei verschiedene Aspekte betrachtet. Es wurde jeweils eine Versuchsreihe zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit von der Probenvorbereitung und zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance durchgeführt.

Für die erste Versuchsreihe wurde jeweils eine Probe an fünf verschiedenen Tagen aufgearbeitet und abschließend alle am gleichen Tag analysiert. Die Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance erfolgte durch eine siebenfach-Injektion einer Probe. Als Probe wurde eine Cremebasis verwendet, welche mit den Duftstoffstandards auf 10 mg/kg dotiert wurde und anschließend, wie in Punkt 3.6.1 beschrieben, aufgearbeitet.

Von den ermittelten Daten wurden jeweils die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten berechnet. Für den Variationskoeffizient wurde ein maximaler Wert von 30 % festgelegt.

3.6.8.4 Bestimmung der Richtigkeit

Die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit geben keine Auskunft über die allgemeine Richtigkeit der Methode. Um die Richtigkeit der entwickelten Methode beurteilen zu können, wurde die Wiederfindungsrate bestimmt.

Für die Durchführung dieser Versuchsreihe wurden jeweils 5 Proben mit den Duftstoffstandards auf 10 mg/kg, 5 mg/kg und 1 mg/kg dotiert, nach Punkt 3.6.1 aufgearbeitet und anschließend analysiert. Als Probe diente eine Cremebasis, welche bis zu 10 % weitere Wirkstoffe aufnehmen kann.

Die daraus resultierenden Daten sollen, laut Rücksprache mit dem Betrieb, eine Wiederfindungsrate von 80 % - 120 % ergeben.

4 Ergebnisse

4.1 Extraktion der Duftstoffe aus Kosmetikprodukten/Probenvorbereitung

Die durchgeführten Versuche, welche in Punkt 3.6.1 beschrieben sind, ergaben, dass sich Heptan besser als Lösungsmittel eignet. Bei der Extraktion mit Methanol erfolgte auch nach mehrmaligen Zentrifugieren keine Absetzung der Probe. Somit entstand kein klarer Überstand, in welchem sich die Duftstoffe gelöst haben sollten.

Bei der Extraktion mit Heptan entstand nach einmaligem Zentrifugieren ein klarer Überstand, welcher so in die GC-MS/MS injiziert und analysiert werden konnte. Bei der anschließenden Auswertung, mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ), konnten alle 28 Duftstoffe gefunden werden.

Auch das Testen der Probenvorbereitung in den Produktgruppen der Duschgele, Shampoos, Pflegespülungen, Cremeseifen, Lippenpflegen, Schimmerlotionen und Sonnenschutzsprays stellte keine Probleme der Methode dar.

4.2 Massenspektren der Duftstoffe

Bei der vorangestellten Recherche nach den Massenspektren der Duftstoffe, wurden keine Spektren von Majantol und Lyril in den Datenbanken gefunden. Des Weiteren wurden von Chloratranol und Atranol nur Massenspektren in der Datenbank der *National Library of Medicine* gefunden, welche die drei oder zwei höchsten Massen darstellen. Von den restlichen Duftstoffen wurden detaillierte Massenspektren in der Datenbank des *NIST* gefunden. Neben den recherchierten Massenspektren geben auch die Molmassen der Duftstoffe eine Aussage über die zu erwartenden Massenspektren, da diese in den Spektren zu sehen sein sollten. Außerdem wurde nach den Strukturformeln recherchiert, um einen Überblick über deren Größe und der zu erwartenden Retentionszeit zu erlangen.

Der Scan mittels der GC-MS/MS wurde mit der Agilent MassHunter Qualitative Analysis- Software ausgewertet. Dabei kam es bei allen Duftstoffen zu einer Übereinstimmung mit den recherchierten Massenspektren und bei Lyril und Majantol zu einer Übereinstimmung mit der jeweiligen Molmasse. Die Massenspektren, sowie die Strukturformeln der Duftstoffe, befinden sich in der Anlage 5. Beim erfolgreichen Scan und Vergleich mit den recherchierten Massenspektren wurden auch die Retentionszeiten der Duftstoffe, welche auf der DB-1-Säule analysiert wurden, notiert (Tabelle 17). Es waren nur diese Retentionszeiten von Bedeutung, da weiterführende Versuche mittels dieser Säule geplant wurden.

Tabelle 17: Retentionszeiten der Duftstoffe aus dem ersten Scan mittels einer DB-1-Säule

Nr.	Duftstoff	Retentionszeit [min]	Duftstoff	Retentionszeit [min]
1/2	Linalool	3,72	Geraniol	4,59
3/4	Methylheptincarbonat	4,2	Hydroxycitronellal	4,7
5/6	Citronellol	4,46	Majantol	5,48
7/8	Citral (2 Isomere)	4,51 und 4,66	Cumarin	5,54
9/10	Alpha-Isomethyl-Ionon	5,9	Chloratranol	5,92
11/12	Amylzimtalkohol (2 Isomere)	6,33 und 6,60	Lilial	6,04
13/14	Amylzimaldehyd	6,617	Atranol	6,07
15/16	Lyril (2 Isomere)	6,66 und 6,62	Benzylbenzoat	7,11
17/18	Farnesol (3 Isomere)	6,9; 6,8 und 6,7	Benzylsalicylat	7,56
19/20	Hexylzimaldehyd	7,1	Benzylcinnamat	8,38
21	Limonen	nicht vom Lsg.- mittel getrennt		

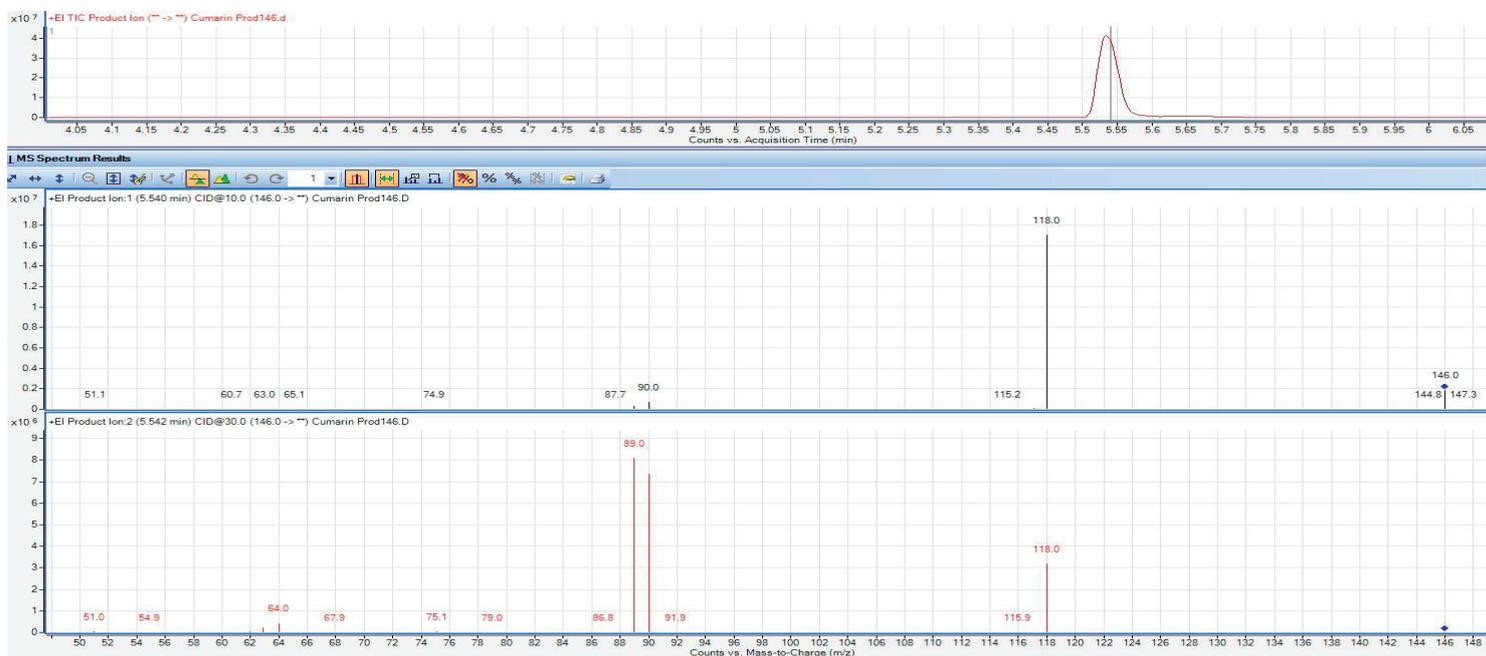
4.3 Tuning der Duftstoffe

Die Auswertung dieser Versuchsreihe (Punkt 3.6.3) erfolgte mit Agilent MassHunter Qualitative Analysis (for QQQ). Das Tuning war bei allen 28 Duftstoffen erfolgreich und es wurden zunächst mehr Massenübergänge ermittelt, als für die Endmethode benötigt werden. Dieses ist zur Sicherheit erfolgt, falls sich im Laufe der Methodenentwicklung herausstellt, dass ein Massenübergang im Stoffgemisch doch nicht spezifisch ist.

Am Beispiel von Cumarin wird in der Abbildung 5 dargestellt, wie die Auswertung, bezüglich der Bestimmung der Produktionen, funktioniert.

Das *precursor-ion* mit der größten relativen Intensität ist bei Cumarin $m/z = 146$. Zu sehen ist, dass dieses bei einer Kollisionsenergie von 10 eV in das Tochterfragment $m/z = 118$ zerfällt und dieses nun die größte relative Intensität besitzt. Bei einer Kollisionsenergie von 30 eV entsteht das Tochterfragment $m/z = 89$. Somit sind diese die Produkt-Ionen des *precursor-ions* $m/z = 146$. Als Nächstes wurden dann die jeweiligen Produktionen der *precursor-ionen* $m/z = 118$ und $m/z = 89$ ermittelt.

Abbildung 5: Beispielhafte Darstellung zur Bestimmung der Produktionen



In der Anlage 1 sind alle ermittelten Massenübergänge und die im Fine-Tuning ermittelten Kollisionsenergien von den 28 Duftstoffen dargestellt. Für die nachfolgenden Schritte wurden lediglich diese ermittelten Daten verwendet.

4.4 Finale Methode

Die Versuchsreihen, welche auf der DB-Wax-Säule durchgeführt wurden, sind in Punkt 3.6.6.7 und Punkt 3.6.7 beschrieben. Nach der Durchführung erfolgte die Auswertung der Daten erneut mit der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ).

Die Auswertung zeigte, dass alle 28 Duftstoffe bei einer Konzentration von 100 g/l mit der DB-Wax-Säule detektiert werden können, da bei jedem Duftstoff ein symmetrischer, eindeutiger und störungsfreier Peak entstand. Auch die Duftstoffe Atranol und Chloratranol, welche zuvor die meisten Probleme aufzeigten, ergaben einen solchen Peak. In der nachfolgenden Tabelle 18 die Massenübergänge, sortiert nach deren Spezifität, aufgezeigt. Der jeweils erste Wert in der Tabelle entspricht dem Quantifier des jeweiligen Duftstoffes.

Das Temperaturprogramm und die weiteren Einstellungen sind gleich geblieben und entsprechen denen aus dem Punkt 3.5.5. Mit diesen war es möglich alle Duftstoffe voneinander zu trennen, sodass es zu keinen Überschneidungen der Peaks kommt.

Tabelle 18: Gruppeneinteilung und die jeweiligen Massenübergänge der Duftstoffe bei der Detektion mit einer DB-WAX-Säule

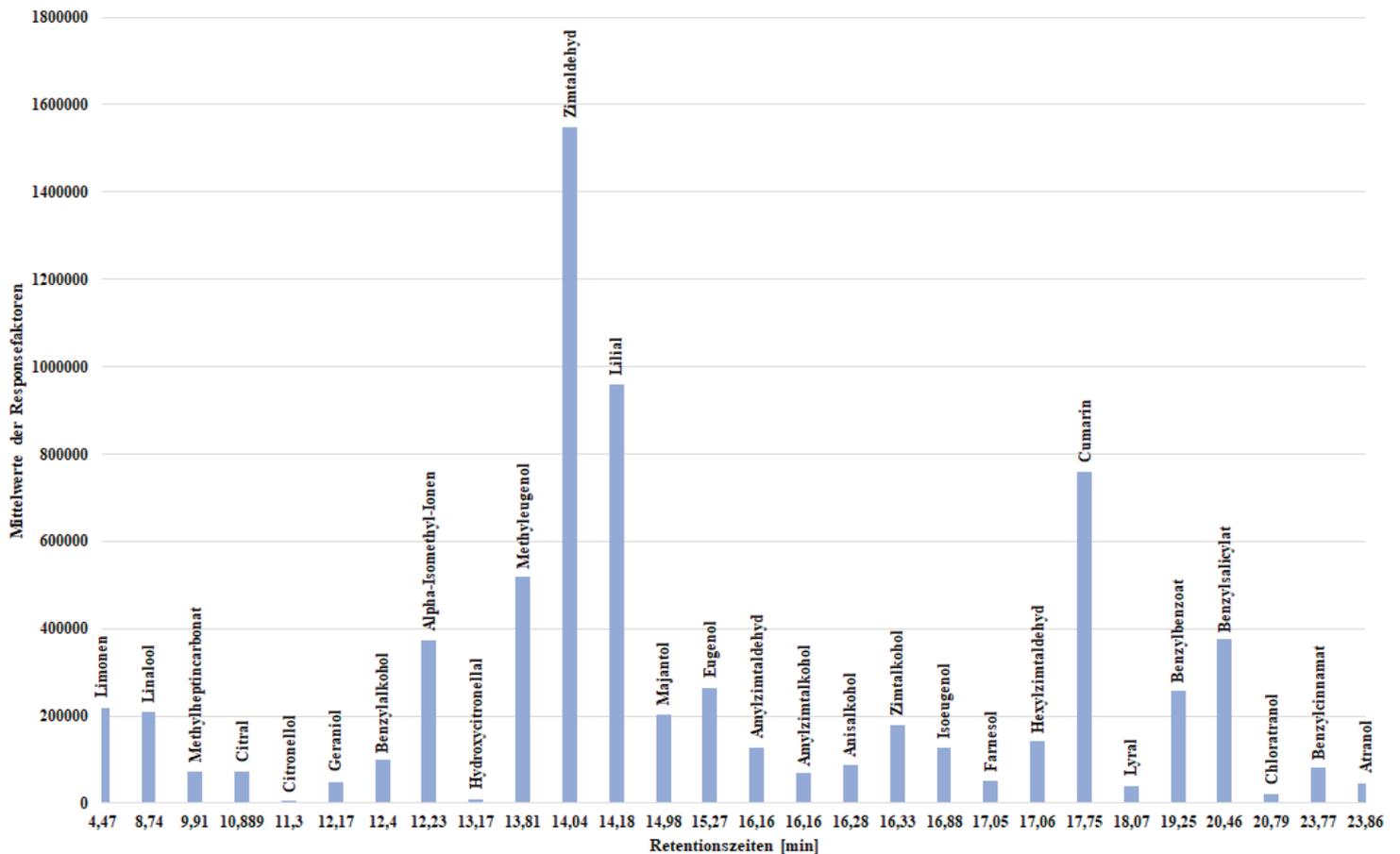
Nr.	Duftstoff	Massenübergänge (Kollisionsenergie)	Gruppe
1	Limonen	121→ 93 (10) 121→ 77 (30) 136→ 93 (10)	1
2	Linalool	93→ 51(30) 121→ 93 (10) 121→ 105 (20)	
3	Methylheptincarbonat	123→ 55 (10) 123→ 67 (10) 153→ 121 (10)	
4	Citral	94→ 79 (10) 109→ 81 (10) 109→ 94 (10) 152→ 137 (15)	2
5	Citronellol	156→ 81 (15) 156→ 95 (10) 156→ 67 (30)	
6	Geraniol	69→ 41 (10) 93→ 77 (10) 93→ 51 (30)	3

7	Benzylalkohol	108→ 79 (10) 107→ 79 (10)	108→ 77 (30)	
8	Alpha-Isomethyl-Ionon	150→ 135 (10) 135→ 79 (15)	135→ 91 (15)	
9	Hydroxycitronellal	59→ 43 (25) 139→ 43 (10)	71→ 53 (10)	4
10	Methyleugenol	178→ 107 (10) 178→ 147 (30)	178→ 163 (20)	
11	Zimtaldehyd	131→ 77 (30) 131→ 103 (10)	103→ 77 (10)	5
12	Lilial	189→ 131 (10) 189→ 117 (30)	189→ 91 (30)	
13	Majantol	178→ 106 (10) 106→ 65 (30)	106→ 91 (10)	
14	Eugenol	164→ 149 (10) 164→ 103 (20)	131→ 77 (30)	
15	Amylzimtaldehyd	202→ 129 (10) 202→ 91 (40)	202→ 145 (25)	6
16	Amylzimtalkohol	115→ 89 (30) 91→ 65 (25)	115→ 63 (30) 202→ 145 (30)	
17	Anisalkohol	138→ 109 (5) 109→ 94 (15)	109→ 77 (15)	
18	Zimtalkohol	134→ 92 (10) 115→ 89 (20)	92→ 65 (30)	
19	Isoeugenol	164→ 103 (20) 131→ 103 (20)	164→ 149 (10)	

20	Farnesol	136→ 121 (10) 161→ 81 (10)	136→ 93 (10)	7
21	Hexylzimtaldehyd	215→ 145 (15) 145→ 117 (10)	215→ 115 (30)	
22	Cumarin	146→ 89 (30) 118→ 90 (10)	146→ 118 (10)	
23	Lyrall	136→ 117 (10) 136→ 91 (30)	136→ 79 (10)	
24	Benzylbenzoat	212→ 105 (15) 212→ 167 (15)	194→ 165 (20)	8
25	Benzylsalicylat	228→ 91 (10) 91→ 51 (30)	91→ 65 (10)	
26	Chloratranol	185→ 65 (20) 140→ 51 (30)	140→ 77 (10)	
27	Benzylcinnamat	192→ 165 (35) 131→ 103 (10)	131→ 77 (30)	9
28	Atranol	151→ 41 (30) 151→ 95 (10)	151→ 67 (10)	

Die Abbildung 6 zeigt eine graphische Darstellungen der durchschnittlichen Responsefaktoren bei einer Konzentration von 100 µg/l der jeweiligen Duftstoffe. Es ist zu erkennen, dass diese innerhalb der 28 Duftstoffe stark schwanken. Auf der x-Achse sind die Retentionszeiten der Duftstoffe zu finden. Anhand dieser ist zu erkennen, dass eine Trennung der Duftstoffe erfolgen konnte.

Abbildung 6: Darstellung der Responsefaktoren der jeweiligen Duftstoffe (100 µg/l) und Retentionszeiten



4.5 Erstellen der Kalibrationsgeraden

Die Kalibration wurde, wie in Punkt 3.6.8 beschrieben, durchgeführt und die Daten mittels der Software Agilent MassHunter Quantitative Analysis (for QQQ) ausgewertet. Bei der ersten Versuchsdurchführung wurde eine zu hohe Streuung erzielt. Es wird eine Varianz von $R^2=0,998$ angestrebt. Dieses bedeutet, die Punkte der Verdünnungsreihe liegen alle sehr nah an der Regressionsgeraden. Die nachfolgende zweite Versuchsreihe wurde mittels einer Sandwich-Injektion, bei der zusätzlich ein Stabilisator injiziert wird, durchgeführt.

In der Anlage 6 sind die jeweiligen Kalibrationsgeraden mit den Varianzen dargestellt. Mit Hilfe der Valoo Auswertungssoftware wurden Ausreißer der Kalibrationsreihe ermittelt und herausgenommen. Dieses führte zu folgenden Varianzen der Kalibrationsgeraden:

Tabelle 19: Varianzen der erstellten Kalibrationsgeraden

Duftstoff	Varianz	Duftstoff	Varianz
Limonen	0,9973	Amylzimtaldehyd	1,0000
Linalool	0,9996	Amylzimtalkohol	0,9999
Methylheptincarbonat	0,9998	Anisalkohol	0,9985
Citral	0,9999	Zimtalkohol	0,9994
Citronellol	1,0000	Isoeugenol	0,9980
Geraniol	0,9992	Farnesol	0,9994
Benzylalkohol	0,9991	Hexylzimtaldehyd	0,9999
Alpha-Isomethyl-Ionon	0,9997	Cumarin	0,9996
Hydroxycitronellal	0,9996	Lylal	0,9994
Methyleugenol	1,0000	Benzylbenzoat	0,9993
Zimtaldehyd	0,9990	Benzylsalicylat	1,0000
Lilial	0,9999	Chloratranol	0,8940
Majantol	1,0000	Benzylcinnamat	0,9994
Eugenol	0,9973	Atranol	0,9999

Die Ergebnisse zeigen, dass nach dem Herausnehmen von Ausreißern, die gewünschte Varianz der Kalibrationsgeraden bei alle Duftstoffen, bis auf Chloratranol, erreicht werden konnte.

4.6 Methodenvalidierung

4.6.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Versuchsreihe und die Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde, wie in Punkt 3.6.9.1 beschrieben, durchgeführt. Dabei ergaben sich die, in der Tabelle 20 dargestellten, Werte. Die jeweiligen Einzelwerte sind in der Anlage 7 zu finden.

Tabelle 20: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der 28 Duftstoffe

Duftstoff	analytisch		methodisch	
	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]
Limonen	20,162	40,324	162,2	324,5
Linalool	42,687	85,374	19,4	38,9
Methylheptincarbonat	37,237	74,473	22,4	44,7
Citral	12,779	25,559	15,9	31,8
Citronellol	11,907	23,814	34,3	68,6
Geraniol	46,034	92,068	52,4	104,8
Benzylalkohol	51,228	102,456	16,9	33,8
Alpha-I-Ionon	4,452	15,711	17,4	34,9
Hydroxycitronellal	35,191	70,382	25,1	50,1
Methyleugenol	4,393	8,787	24,9	49,9
Zimtaldehyd	83,432	166,864	24,7	49,4
Lilial	24,716	49,432	22,2	44,4
Majantol	5,613	11,225	26,1	52,3
Eugenol	161,219	322,439	30,9	61,9

Amylzimtaldehyd	6,597	13,194	20,7	41,4
Amylzimtalkohol	13,985	27,969	18,6	37,2
Anisalkohol	65,360	130,721	28,7	57,3
Zimtalkohol	74,299	148,597	34,6	69,2
Isoeugenol	165,732	331,465	80,6	161,2
Farnesol	85,477	170,955	60,9	121,9
Hexylzimtaldehyd	15,547	31,095	26,2	52,4
Cumarin	33,248	66,496	22,2	44,3
Lylal	81,600	163,200	36	72
Benzylbenzoat	55,387	110,774	27,9	55,7
Benzylsalicylat	14,019	28,037	60,2	120,5
Chloratranol	576,431	1152,863	189,6	379,2
Benzylcinnamat	37,738	75,477	25,1	50,2
Atranol	21,316	42,633	263,7	527,5

An den Ergebnissen ist zu erkennen, dass die analytischen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von den methodisch ermittelten Daten abweichen. Je nach Duftstoff sind entweder die analytischen oder die methodischen Grenzen höher und es ist kein Zusammenhang zwischen den einzelnen Duftstoffen zu erkennen.

Die Deklaration der Duftstoffe muss bei Leave-on-Produkten, ab einer Konzentration von 10 ppm (mg/kg) und bei Rinse-off-Produkten ab 100 ppm (mg/kg), erfolgen. Bei der Probenvorbereitung werden die Proben 1:10 verdünnt. Dementsprechend sollten die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mindestens bei 1 mg/kg liegen, um Produkte, bezüglich ihrer Deklaration, überprüfen zu können.

Diese Grenzen wurden bei allen Duftstoffen, bis auf Atranol und Chloratranol, weit unterschritten, sodass die aufgearbeiteten Proben vor der Analyse nochmals 1:5 oder 1:10

verdünnt werden sollte. Somit wäre die Analyse auch für das Gerät schonender und es erfolgt eine Verbeugung gegen Matrixeffekte und Verschleppungen.

4.6.2 Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde, wie im Punkt 3.6.9.2 beschrieben, bestimmt. Die errechneten Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten sind in der Tabelle 21 dargestellt. Die jeweiligen Einzelwerte sind der Anlage 7 zu entnehmen.

Tabelle 21: Bestimmung der Wiederholbarkeit

Duftstoff	Konzentration	Mittelwert [mg/kg]	Standard- abweichung [mg/kg]	Variations- koeffizient [%]
Limonen	1 mg /kg	225,30	54,08	15,8
	5 mg/kg	613,66	47,11	
Linalool	1 mg/kg	107,57	6,48	5,9
	5 mg/kg	490,15	28,45	
Methylheptin- carbonat	1 mg/kg	134,01	7,45	4,9
	5 mg/kg	585,81	24,54	
Citral	1 mg/kg	141,76	5,30	5,5
	5 mg/kg	655,15	47,08	
Citronellol	1 mg/kg	120,66	11,43	11,3
	5 mg/kg	630,02	82,34	
Geraniol	1 mg/kg	295,15	17,47	4,5
	5 mg/kg	881,16	27,67	
Benzylalkohol	1 mg/kg	99,0	5,63	5,3
	5 mg/kg	434,08	21,42	

Alpha-Isomethyl-Ionon	1 mg/kg	118,97	5,81	4,1
	5 mg/kg	593,91	19,42	
Hydroxycitronellal	1 mg/kg	109,83	8,36	6,0
	5 mg/kg	489,01	21,85	
Methyleugenol	1 mg/kg	117,47	8,31	6,3
	5 mg/kg	590,21	33,20	
Zimtaldehyd	1 mg/kg	103,35	8,23	8,4
	5 mg/kg	496,49	44,34	
Lilial	1 mg/kg	118,18	7,41	4,9
	5 mg/kg	577,38	20,92	
Majantol	1 mg/kg	105,14	8,71	6,0
	5 mg/kg	491,86	18,75	
Eugenol	1 mg/kg	297,67	10,31	3,6
	5 mg/kg	1233,73	46,77	
Amylzimtaldehyd	1 mg/kg	98,56	6,90	5,4
	5 mg/kg	480,71	17,86	
Amylzimtalkohol	1 mg/kg	94,45	6,19	5,3
	5 mg/kg	461,69	18,33	
Anisalkohol	1 mg/kg	134,76	9,55	6,2
	5 mg/kg	575,68	30,86	
Zimtalkohol	1 mg/kg	187,04	11,53	5,7
	5 mg/kg	846,69	43,79	

Isoeugenol	1 mg/kg	442,71	26,86	5,1
	5 mg/kg	1958,87	82,73	
Farnesol	1 mg/kg	227,54	20,31	7,2
	5 mg/kg	978,77	53,62	
Hexylzimaldehyd	1 mg/kg	138,94	8,74	4,5
	5 mg/kg	621,85	17,02	
Cumarin	1 mg/kg	128,20	7,39	4,7
	5 mg/kg	651,74	24,01	
Lylal	1 mg/kg	219,02	12,00	4,8
	5 mg/kg	972,41	40,15	
Benzylbenzoat	1 mg/kg	228,07	9,29	4,9
	5 mg/kg	626,40	36,32	
Benzylsalicylat	1 mg/kg	192,35	20,08	18,0
	5 mg/kg	942,10	240,04	
Chloratranol	1 mg/kg	111,85	63,20	43,7
	5 mg/kg	1440,42	443,87	
Benzylcinnamat	1 mg/kg	248,74	8,37	6,2
	5 mg/kg	1153,71	105,37	
Atranol	1 mg/kg	2395,39	87,91	7,3
	5 mg/kg	2372,83	257,21	

Die Werte in der Tabelle zeigen auf, dass bei allen Duftstoffen, außer Chloratranol, ein gewünschter Variationskoeffizient von $\leq 30\%$ bei der Wiederholbarkeit erreicht wurde. Dieses

bedeutet, dass die Fähigkeit des Gerätes und der Methode, unter Wiederholungsbedingungen nahe beieinanderliegende Ergebnisse zu erzeugen, gegeben ist.

4.6.3 Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung und der Geräteperformance wurde, wie in Punkt 3.6.9.3 beschrieben, bestimmt. Dabei ergaben sich die in der Tabelle 22 dargestellten Ergebnisse. Die jeweiligen Einzelwerte sind in der Anlage 7 zu finden.

Tabelle 22: Ergebnisse zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung

Duftstoff	Mittelwert [mg/kg]	Standard-abweichung [mg/kg]	Variations-koeffizient [%]
Limonen	6381,98	749,62	11,7
Linalool	10755,39	1209,75	11,2
Methylheptincarbonat	9605,19	888,47	9,2
Citral	9404,84	857,48	9,1
Citronellol	5204,22	882,18	11,3
Geraniol	12991,76	1188,89	9,2
Benzylalkohol	5074,80	497,02	9,8
Alpha-Isomethyl-Ionon	8737,50	904,63	10,4
Hydroxycitronellal	6705,84	456,94	6,8
Methyleugenol	8756,86	616,93	7,0
Zimtaldehyd	8495,47	727,97	8,6
Lilial	8331,01	731,39	8,8
Majantol	9092,83	578,88	6,4
Eugenol	9042,99	558,35	6,2

Amylzimtaldehyd	8337,30	896,17	10,7
Amylzimtalkohol	8709,79	1006,48	11,6
Anisalkohol	5405,08	452,31	8,4
Zimtalkohol	8342,30	540,23	6,5
Isoeugenol	7655,32	526,89	6,9
Farnesol	9046,95	905,17	10,0
Hexylzimtaldehyd	7823,21	882,57	11,3
Cumarin	6090,55	717,52	11,8
Lyril	9060,39	581,98	6,4
Benzylbenzoat	7640,49	733,73	9,6
Benzylsalicylat	5670,97	599,99	10,6
Chloratranol	4664,51	2238,51	48
Benzylcinnamat	4741,42	730,21	15,4
Atranol	3545,72	644,75	18,2

Die Ergebnisse der Prüfung der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung zeigen ein ähnliches Bild, wie die Prüfung der Wiederholbarkeit. Es wurde bei allen Duftstoffen, bis auf Chloratranol, ein Variationskoeffizient der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung von $\leq 30\%$ erreicht.

Die Ergebnisse zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance sind in der Tabelle 23 dargestellt. Die Ergebnisse beruhen auf den Response-Faktoren der 7 Einzelwerte pro Duftstoff, welche der Anlage 8 zu entnehmen sind. Der Response-Faktor, Detektionsempfindlichkeit, ist das Verhältnis aus Signalgröße zur Konzentration bzw. Masse des Analyten für konstante Analysenbedingungen und Analytmenge. Die Tabelle zeigt, dass auch die Geräteperformance reproduzierbar ist, da die jeweiligen Variationskoeffizienten in den meisten Fällen bei $\leq 9\%$ liegen. Lediglich die Ergebnisse der Duftstoffe von Atranol und Chloratranol weichen ab.

Tabelle 23: Ergebnisse zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance

Duftstoff	Mittelwert der Responsefaktoren	Standardabweichung [mg/kg]	Variationskoeffizient [%]
Limonen	218884,10	4400,99	2,01
Linalool	210579,39	2660,32	1,26
Methylheptincarboxat	73548,05	807,92	1,098
Citral	72880,10	2621,98	3,60
Citronellol	5895,38	473,80	8,04
Geraniol	49731,95	979,18	1,97
Benzylalkohol	99174,87	1403,30	1,41
Alpha-Isomethyl-Ionon	372972,17	4542,13	1,22
Hydroxycitronellal	10258,80	278,14	2,71
Methyleugenol	518359,98	8488,81	1,64
Zimtaldehyd	1546951,30	32808,56	2,12
Lilial	958547,16	11102,41	1,16
Majantol	202102,61	2588,78	1,28
Eugenol	265450,05	6144,48	2,31
Amylzimtaldehyd	127491,43	1482,73	1,16
Amylzimtalkohol	68607,71	1221,18	1,78
Anisalkohol	88392,08	2127,77	2,41
Zimtalkohol	178670,93	2404,16	1,35
Isoeugenol	127577,37	2491,37	1,95

Farnesol	51273,56	1137,16	2,22
Hexylzimaldehyd	143082,21	2963,99	2,07
Cumarin	758898,90	19423,47	2,56
Lyrall	40893,25	418,41	1,02
Benzylbenzoat	259135,55	4099,53	1,58
Benzylsalicylat	375483,43	8901,47	2,37
Chloratranol	21688,08	2103,25	9,70
Benzylcinnamat	83083,68	3004,43	3,62
Atranol	46162,21	40294,88	87,29

4.6.4 Bestimmung der Richtigkeit

Für die Bestimmung der Richtigkeit der Methode wurde die Wiederfindungsrate, wie in Punkt 3.6.8.4 beschrieben, bestimmt. Die Ergebnisse der Versuchsreihe sind in der Tabelle 24 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass bei einigen Duftstoffen eine gewünschte Wiederfindungsrate von 80 % - 120 % nicht erreicht werden konnte. Besonders die Werte der Duftstoffe Chloratranol und Atranol weichen sehr vom gewünschten Ergebnis ab. Dieses liegt vor allem an den Kalibrationsgeraden, welche eine hohe Varianz aufwiesen.

Die meisten Werte der anderen Duftstoffe, welche nicht im gewünschten Bereich liegen, sind zu hoch. Dieses könnte an Matrixeffekten, verursacht von der Creme Basis, liegen.

Tabelle 24: Bestimmung der Wiederfindungsrate der 28 Duftstoffe

Duftstoff	Wiederfindungsrate [%]	Duftstoff	Wiederfindungsrate [%]
grün = Wiederfindungsrate 80 %-120%; rot = außerhalb des gewünschten Bereiches			
Limonen		Amylzimtaldehyd	
1 mg/kg	167,33	1 mg/kg	98,56
5 mg/kg	111,14	5 mg/kg	96,14
10 mg/kg	63,24	10 mg/kg	83,37
Linalool		Amylzimtalkohol	
1 mg/kg	102,81	1 mg/kg	94,45
5 mg/kg	97,08	5 mg/kg	92,34
10 mg/kg	107,51	10 mg/kg	87,10
Methylheptincarbonat		Anisalkohol	
1 mg/kg	123,17	1 mg/kg	112,44
5 mg/kg	115,00	5 mg/kg	110,67
10 mg/kg	95,94	10 mg/kg	53,83
Citral		Zimtalkohol	
1 mg/kg	87,81	1 mg/kg	157,24
5 mg/kg	120,24	5 mg/kg	163,38
10 mg/kg	93,51	10 mg/kg	83,13
Citronellol		Isoeugenol	
1 mg/kg	120,66	1 mg/kg	386,98
5 mg/kg	126,00	5 mg/kg	380,63
10 mg/kg	52,04	10 mg/kg	76,00
Geraniol		Farnesol	
1 mg/kg	186,80	1 mg/kg	193,07
5 mg/kg	154,56	5 mg/kg	188,86
10 mg/kg	128,83	10 mg/kg	90,12

Benzyalkohol		Hexylzimtaldehyd	
1 mg/kg	90,03	1 mg/kg	132,88
5 mg/kg	85,02	5 mg/kg	123,16
10 mg/kg	50,66	10 mg/kg	78,17
Alpha-Isomethyl-Ionon		Cumarin	
1 mg/kg	118,84	1 mg/kg	126,32
5 mg/kg	118,76	5 mg/kg	129,97
10 mg/kg	87,37	10 mg/kg	60,89
Hydroxycitronellal		Lylal	
1 mg/kg	98,27	1 mg/kg	187,95
5 mg/kg	95,49	5 mg/kg	188,27
10 mg/kg	66,94	10 mg/kg	90,29
Methyleugenol		Benzybenzoat	
1 mg/kg	117,47	1 mg/kg	198,21
5 mg/kg	118,04	5 mg/kg	119,31
10 mg/kg	87,57	10 mg/kg	76,11
Zimtaldehyd		Benzyisalicylat	
1 mg/kg	97,39	1 mg/kg	192,35
5 mg/kg	98,11	5 mg/kg	188,42
10 mg/kg	84,90	10 mg/kg	56,71
Lilial		Chloratranol	
1 mg/kg	113,47	1 mg/kg	32,50
5 mg/kg	114,53	5 mg/kg	272,21
10 mg/kg	83,26	10 mg/kg	45,85
Majantol		Benzylicinamat	
1 mg/kg	105,14	1 mg/kg	248,74
5 mg/kg	98,37	5 mg/kg	230,74
10 mg/kg	90,93	10 mg/kg	47,41

Eugenol		Atranol	
1 mg/kg	243,25	1 mg/kg	-874,84
5 mg/kg	235,86	5 mg/kg	-179,48
10 mg/kg	89,89	10 mg/kg	2,75

5 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit, eine GC-MS/MS Multimethode für Duftstoffe in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen zu entwickeln und validieren, wurde größtenteils erreicht.

Kosmetika und kosmetischen Grundstoffe sind Bestandteil unseres täglichen Lebens, daher werden diese auch von jedem Verbraucher verwendet, denn auch Sonnencreme und Zahnpasta sind Kosmetika.

Die Hersteller dieser Mittel gehen dem Wunsch der Konsumenten nach wohlriechenden Körperpflegemitteln, durch den Zusatz von Duftstoffen, nach. Bei diesen handelt es sich zumeist um relativ flüchtige zykloliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Ester, Aldehyde oder Ketone und sind ein essentieller Bestandteil in Kosmetika. (Nagorka, Straff und Wolter, 2016), (Kindl und Raab, 2012)

Ungefähr 3000 verschiedene Duftstoffe werden in der Duftstoffindustrie verwendet. 300 oder mehr verschiedene Duftstoffe kann ein einzelnes Eau de Toilette enthalten. Der Duftstoffanteil in Kosmetika liegt meist bei 0,2-1% in Cremes, Shampoos, etc. und bei bis zu 3% in Deostiften. Oft sind bis zu 100 Duftstoffe in einer Konzentration von je ca. 0,002 - 0,03% in Parfüms enthalten. (Bresser, 2021)

Damit nur sichere Kosmetikprodukte auf den Markt gebracht werden, legt die EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr.1223/2009 entsprechende Vorschriften fest, um ein hohes Niveau des Gesundheitsschutzes zu gewährleisten. (BMEL, 2019)

In dieser Verordnung ist ein wichtiger Punkt, die Deklarationspflicht von 26 potentiell allergenen Duftstoffen. Diese muss erfolgen, wenn ihr Gehalt in Produkten, die nach der Benutzung wieder abgewaschen werden (Duschgel, Haarwaschmittel, Seife), 100 ppm (mg/kg) übersteigt und ihr Gehalt in Produkten, die auf der Haut oder den Haaren verbleiben (Creme, Parfüm, Haarfestiger), 10 ppm (mg/kg) übersteigt. (BVL, 2021)

Duftstoffe sind neben Konservierungsstoffen in Kosmetika die häufigsten Allergene und somit kritische Bestandteile. Oft werden von Duftstoffallergikern auch chemisch ähnliche Substanzen nicht vertragen. Dabei handelt es sich dann um eine Kreuzallergie.

Daher ist es auch wichtig diese durch eine Analyse, zum Beispiel einer GC-MS, zu kontrollieren. (Nds. Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit; Brans und Geier, 2020)

Für den Betrieb ist die Entwicklung eines solchen Systems wichtig, da die Duftstoffanalyse ein wichtiger Teil im Bereich der Kosmetika und der kosmetischen Grundstoffe, darstellt. Aufgrund des breiten Spektrums der Duftstoffe, wurde sich dafür entschieden, dass die zu entwickelnde Methode die 26 potentiell allergenen Duftstoffe und zusätzlich Atranol und Chloratranol umfassen sollte. In der Kosmetikverordnung sind zusätzlich noch weitere bedenkliche Duftstoffe

aufgelistet, jedoch wurde die Aufnahme dieser in die Methode den Rahmen der Arbeit übersteigen.

Ein wichtiger Schritt für die Durchführung einer GC-MS/MS ist die Probenvorbereitung. Dabei ist es wichtig die gewünschten Bestandteile, in diesem Fall die Duftstoffe, vollständig aus der Probe zu lösen. Bei der Entwicklung wurden die Erfahrungen des Betriebes mit einbezogen und eine bereits etablierte Probenvorbereitung, für die Prüfung von Kosmetika auf Konservierungsstoffe, getestet und abgewandelt. Neben dem sonst verwendeten Methanol, wurde auch Heptan als Lösungsmittel, für die Extraktion verwendet. Heptan wurde bereits für das Verdünnen der Duftstoffstandards verwendet und stellte keine Probleme dar. Auch die Versuche zeigten, dass sich Heptan als Lösungsmittel besser eignet, da sich nur bei Heptan ein klarer Überstand ergab. Für die ersten Versuche wurde eine Creme-Basis von Jean Pütz verwendet, welche mit einem Duftstoffstandard dotiert wurde. Dieser beinhaltete jeden Duftstoff in der gleichen Konzentration. Da die Cremebasis nicht repräsentativ für die große Auswahl an Kosmetikprodukten ist, wurde die Probenvorbereitung in weiteren Produkten, mit verschiedenen Texturen, getestet. Somit konnte ein größeres Spektrum der Kosmetika abgedeckt werden und auch diese Produkte konnten mittels der entwickelten Probenvorbereitung aufgearbeitet werden. Wichtig für die Entwicklung einer GC-MS/MS-Methode ist das Ermitteln der jeweiligen Massenspektren und das Finden von spezifischen Massenübergängen mit dazugehörigen Kollisionsenergien. Bei diesem Prozess stellte auch die Wahl der Säule, bei keinem Duftstoff, ein Problem dar. Dieses wird an den hohen Duftstoffkonzentrationen von 10 mg/l liegen.

Es bestand die Annahme, dass für die weitere Entwicklung der Methode höhere Temperaturen notwendig sein. Aus diesem Grund wurden weiterführende Versuche mittels einer DB-1-Säule unternommen. Dafür sprachen auch die Informationen aus der DIN EN 16274, welche sich mit einem Analyseverfahren für Allergene - Quantifizierung einer erweiterten Liste von zu vermutenden Allergenen in einspritzfertigen Duftstoffen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie befasst. In dieser wird die Analyse von einigen Duftstoffen mittels einer DB-1-Säule beschrieben.

Bei der weiterführenden Entwicklung einer Methode mit dieser Säule, traten jedoch vermehrt Probleme bei den Signalen auf. Vorallem die Duftstoffe Atranol und Chloratranol ergaben kaum bis gar keine Signale. Bei einer Konzentration von 100 µg/l ergaben lediglich 10 von 28 Duftstoffe eindeutige und störungsfreie Peaks. Die restlichen Duftstoffe zeigten bei der Auswertung entweder keine Peaks, sondern nur ein Rauschen oder unsymmetrische Peakflächen. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die DB-1-Säule nicht geeignet ist, um alle Duftstoffe zu trennen. Da es die Analyse von Duftstoffen im alltäglichen Betriebsablauf

aufwändiger machen würde, wenn 2 Säulen und somit 2 Analysen benötigt werden, war es wünschenswert eine Gesamtmethode mit einer Säule zu entwickeln. Aufgrund der stärksten Probleme mit Atranol und Chloratranol wurde zunächst, in der wissenschaftlichen Literatur von NCBI, nach bereits etablierten GC-MS-Analysen dieser Duftstoffe gesucht. Die wissenschaftliche Arbeit von Chisvert, A.; Lopez-Nogueroles, M.; Salvador, A. (2014) zeigte eine Methode auf, mit welcher man bis in den ppm Bereich Atranol und Chloratranol detektieren kann. Auf Grundlage dieser Arbeit wurde die DB-1-Säule, für die weiteren Versuche, auf eine HP-5-Säule gewechselt. Entsprechend der Arbeit wurden die Geräteeinstellungen übernommen. Jedoch war auch dieser Versuch nicht erfolgreich, da auch mittels dieser Säule 10 Duftstoffe, darunter Atranol und Chloratranol, nicht gut detektiert werden konnten und keine symmetrischen und störungsfreien Peaks entstanden sind. Dieses lässt sich logisch erklären, da sich die DB-1-Säule und die HP-5-Säule nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Die HP-5-Säule unterscheidet sich nur mit 5% Phenyl-Methylpolysiloxan von der DB-1-Säule. Somit sind beide Säulen unpolar und weisen ähnliche Trennungseigenschaften auf.

Die nächste Überlegung war daher eine polare Säule zu verwenden, welche somit im kompletten Gegensatz zu den vorherigen Säulen steht. Es wurde eine DB-Wax-Säule gewählt, welche zuvor schon für das Tuning von 7 Duftstoffstandards verwendet wurde. Nach einem Scan von jedem Duftstoffstandard wurde die vorherige Annahme, dass die Säule für die Detektion keine ausreichende Temperatur erreichen kann, widerlegt. Es konnten mittels dieser Säule alle Duftstoffstandards, auch die Duftstoffe Atranol und Chloratranol, detektiert werden. Dabei ergaben sich bei allen eindeutige und störungsfreie Peaks. Weitere Versuchen ergaben, dass die Detektion auch im Bereich von 10 µg/l bis 1 mg/l möglich ist. Eine höhere Konzentration würde für das Massenspektrometer einen zu hohen Verschleiß bedeuten.

Für die endgültige Methode wurde sich dementsprechend für die Verwendung einer DB-Wax-Säule entschieden. Das endgültige Temperaturprogramm, welches 26 Minuten umfasst, ist ebenfalls für den Betriebsalltag geeignet. Somit ist es möglich einen gewissen Durchsatz an Proben zu analysieren und den Kunden zeitnah eine Information über die Prüfergebnisse zu geben.

Wie anhand der Retentionszeiten zu erkennen ist, ist das Temperaturprogramm ausreichend, um 26 von 28 Duftstoffe in einem Gemisch voneinander trennen zu können. Lediglich Amylzimtalkohol und Amylzimtaldehyd weisen die gleichen Retentionszeiten auf. Dieses ist mit der sehr nah beieinander liegenden Molmasse, Amylzimtaldehyd $M=202,3$ und Amylzimtalkohol $M=204,3$, und der ähnlichen Struktur der Moleküle zu erklären. Zudem sind die Massenspektren der beiden Duftstoffe, wie der Anlage 5 zu entnehmen ist, sehr ähnlich.

Somit funktionieren auch die gewählten Massenübergänge bei beiden Duftstoffen. Jedoch kann eine Unterscheidung der Duftstoffe durch den Vergleich der jeweiligen Peakhöhe der einzelnen Massenübergänge erfolgen. Diese jeweilige Reihenfolge ist bei den getesteten Konzentrationen gleichbleibend und somit auch aussagekräftig in Bezug auf die Bestimmung des jeweiligen Duftstoffes.

Die abschließende Validierung gab Auskunft über die Verwendbarkeit der Methode im Betrieb. Dabei ist es wichtig, dass mit der endgültigen Methode konstante Werte ermittelt werden können. Für diese Untersuchungen wurden typische Validierungspunkte, wie die Wiederholbarkeit, die Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit festgelegt. Die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung und der Geräteperformance erfüllten bei 26 von 28 Duftstoffen die gewünschten Werte. Somit ist in Bezug auf diese Eigenschaften die Methode, als repräsentative Analyse von Duftstoffen in Kosmetika, geeignet. Die Duftstoffe Atranol und Chloratranol, welche zuvor schon Probleme darstellten, konnten die gewünschten Werte nicht erreichen. Diese erzielten zudem auch keine geeignete Kalibrationsgerade, welches die Ergebnisse der Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit erklären. Eine Erklärung für dieses Problem wäre, dass Toluol nicht für die Lösung der Duftstoffe geeignet ist. Toluol wurde verwendet, um die Duftstoffstandards zu lösen und auf eine Konzentration von 200 mg/l einzustellen. Bereits beim Lösen benötigten diese beiden Duftstoffe eine längere Zeit im Ultraschallbad, bis die Feststoffe augenscheinlich gelöst waren. Während der Lagerung bei -18°C setzten sich erneut Feststoffe ab, sodass für die Verwendung ein erneutes Lösen im Ultraschallbad nötig war.

Bei der Bestimmung der Richtigkeit, unter Bezugnahme der Wiederfindungsrate, zeigten, neben den Duftstoffen Atranol und Chloratranol, auch noch weitere Duftstoffe nicht die benötigten Werte. Für eine Sicherheit der Methode musste eine Wiederfindungsrate von 80 % - 120 % erreicht werden. In den meisten Fällen wurde eine zu hohe Wiederfindungsrate erreicht, welches auf ein Vorhandensein von Matrixeffekten hindeutet. Aus zeitlichen Gründen konnte, um die Annahme zu bestätigen, nur ein Versuch durchgeführt werden. Bei diesem wurden die dotierten Proben, nach der Aufarbeitung, mit einem aufgearbeiteten Blank, anstatt Heptan, verdünnt. Auch eine Kalibrationsreihe wurde so hergestellt. Die ersten Ergebnisse bestätigten die Annahme über das Auftreten von Matrixeffekten. Jedoch wurde die Kalibrationsreihe, welche mit Heptan hergestellt wurde, mehrere Tage hintereinander gemessen. Dabei stellte sich heraus, dass durch das häufige perforieren des Septums der Verschlusskappe ein Ausdampfen des Heptans erfolgte. Somit erhöhte sich die Konzentration der Duftstoffe in den Vials.

Am Ende dieser Arbeit konnte eine GC-MS/MS Multimethode für Duftstoffe in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen entwickelt und zum Teil validiert werden.

Eine Empfehlung für weitere Forschung ist daher ein geeignetes Lösungsmittel für die Duftstoffe Chloratranol und Atranol zu finden. In Bezug auf die Studie von Chisvert, A.; Lopez-Nogueroles, M. und Salvador, A. ist Ethanol als Lösungsmittel zu empfehlen. Dahingegen sagt die DIN aus, dass Lösemittel mit Hydroxyl- oder Carbonylfunktionen (Ethanol, Methanol, Aceton,) nicht für das Lösen geeignet sind, um einen Abbau oder eine Reaktion mit den Analyten (z.B. Acetalbildung) zu vermeiden. In der DIN EN 16274:2020-03 wird als Lösungsmittel Methylpivalat und tert-Butylmethylether empfohlen.

Des Weiteren sollte die Wiederfindungsrate durch erneute Versuche, in Bezug auf das Vorhandensein von Matrixeffekten, verbessert werden. Dabei ist es wichtig die Kalibrationsreihe täglich frisch anzusetzen und zu messen, damit tagesaktuelle Schwankungen des Gerätes mit einbezogen werden. Als Kalibrationsbereich ist eine Spanne von 10 µg/l bis 500 µg/l ausreichend, da somit das Massenspektrometer geschont wird. Dementsprechend ist die Verdünnung der aufgearbeiteten Proben anzupassen. Bei den durchgeführten Versuchen wurde die Creme-Basis höchstens mit einer Konzentration von 10 mg/kg dotiert. Dieses entspricht der Deklarationsgrenze für Produkte, welche auf dem Körper verbleiben. Da die Grenze für Produkte, welche wieder abgewaschen werden, um ein 10-faches höher ist, sollten auch höhere Konzentrationen abgedeckt werden. Daher wäre es für die weitere Forschung sinnvoll die Cremebasis mit einer Konzentration von 50 mg/kg, 100 mg/kg und 200 mg/kg zu dotieren, aufzuarbeiten und zu analysieren. Es ist davon auszugehen, dass die meisten Kosmetika und kosmetischen Grundstoffe eine so hohe oder höhere Konzentration an Duftstoffen, beinhalten.

6 Zusammenfassung

Düfte sind ein essenzieller Bestandteil in unserem täglichen Leben, da sie in der Natur sowie in Lebensmitteln vorkommen. Sie sind grundlegend für ein Parfüm und werden in zahlreichen Alltagsprodukten, wie Kosmetika zugesetzt. Diese Mittel kommen in direkten Kontakt mit dem Menschen, daher dürfen nur sichere Kosmetikprodukte auf den Markt gebracht werden. Damit ein hohes Niveau des Gesundheitsschutzes gewährleistet werden kann, werden von der EU-Kosmetikverordnung (EG) Nr. 1223/2009 entsprechende Vorschriften festgelegt.

Duftstoffe sind neben Konservierungsstoffen in Kosmetika die häufigsten Allergene und somit kritische Bestandteile. Daher ist es auch wichtig diese durch eine Analyse, zum Beispiel einer GC-MS, zu kontrollieren. Zurzeit besteht für 26 Duftstoffe eine Deklarationspflicht, wenn ihr Gehalt in Produkten, die nach der Benutzung wieder abgewaschen werden (Duschgel, Haarwaschmittel, Seife), 100 ppm (mg/kg) und ihr Gehalt in Produkten, die auf der Haut oder den Haaren verbleiben (Creme, Parfüm, Haarfestiger), 10 ppm (mg/kg) übersteigt.

Daher befasst sich diese Arbeit mit der Entwicklung und Validierung einer GC-MS/MS Multimethode für die Detektion von Duftstoffen in Kosmetika und kosmetischen Grundstoffen. In Absprache mit dem Betrieb wurden 28 Duftstoffe gewählt, davon die 26 allergieauslösenden Duftstoffe, welche die Multimethode beinhalten sollte. Zunächst wurde eine Methode für die Probenvorbereitung, auf Grundlage einer Extraktion, entwickelt.

Grundlegend für die Entwicklung einer GC-MS/MS-Methode ist die Bestimmung von spezifischen Massenübergängen und die dazugehörigen Kollisionsenergien, für jeden einzelnen Duftstoff. Entscheidend für die Trennung eines Gemisches, in die einzelnen Bestandteile, ist die Wahl der Säule und des Temperaturprogrammes. In dieser Arbeit wurde sich, nach Versuchen mit verschiedenen Säulen, für eine DB-Wax-Säule und ein 28-minütiges Temperaturprogramm entschieden.

Mit der entwickelten Methode war eine Detektion der gewählten 28 Duftstoffe und eine Validierung dieser möglich. Die Validierung beinhaltete die Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze, der Wiederholbarkeit, der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung, der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung und die Bestimmung der Richtigkeit. Abschließend zeigten 26 von 28 Duftstoffe, in allen Bereichen, bis auf die Richtigkeit, die gewünschten Ergebnisse. Bei der Bestimmung der Richtigkeit ergaben sich bei mehreren Duftstoffen nicht die gewünschten Werte.

7 Literatur

1. AGES: Allergene Duftstoffe [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://www.ages.at/themen/kosmetik/kennzeichnung/allergene-duftstoffe/>
2. Barth, A.: Allergisch auf Düfte, 2012 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://www.ugb.de/allergien-immunsystem/allergisch-auf-duefte/>
3. Bernstein, E.: Kosmetika, 2018 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://medlexi.de/Kosmetika>
4. Bottenbruch, S.; Hausen, B.M.: Lyrall-Allergie [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://d-nb.info/1170834256/34>
5. Brans, R.; Geier, J.: Wie häufig ist die Duftstoffallergie wirklich?, 2020. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://sci-hub.se/10.1007/s00105-019-04534-w>
6. Braun-Falco, O.; Gloor, M.; Korting, H. C.; Stachowitz, S.: Nutzen und Risiko von Kosmetika. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2000
7. Brendel, R.; Rohn, S.; Weller, P.: Multivariate Regression zur Quantifizierung von potentiell allergenen Duftstoffen in Kosmetika mittels zweidimensionaler GC-IMS [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.researchgate.net/profile/Philipp-Weller-2/publication/341165975_Multivariate_Regression_zur_Quantifizierung_von_potentiell_allergenen_Duftstoffen_in_Kosmetika_mittels_zweidimensionaler_GC-IMS/links/5ed0b4d192851c9c5e660309/Multivariate-Regression-zur-Quantifizierung-von-potentiell-allergenen-Duftstoffen-in-Kosmetika-mittels-zweidimensionaler-GC-IMS.pdf
8. Bresser, H.: Duftstoffallergie, Allergie gegen Parfum und Duftstoffe [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://www.drbruesser.de/allergien-umwelt/kontaktallergie-kontaktekzem/duftstoffallergie/>

9. Bruchmann, A.; Lahaniatis, M.R.; Schwabe, R.; Tschichardt, M.; Kettrup, A.: GC/MS-Kopplung, 2012, [online], [Zugriff am 27.05.2021]. Verfügbar unter: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/3527600418.amgcmsd0013>
10. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft: Kosmetische Mittel – EU-Verordnung stärkt Produktsicherheit, 2019 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.bmel.de/DE/themen/verbraucherschutz/produktsicherheit/kosmetik/kosmetik_node.html
11. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Kennzeichnung von Duftstoffen [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/03_Verbraucherprodukte/03_Antragsteller Unternehmen/02_Kosmetik/05_Kennzeichnung/02_Duftstoffe/bgs_fuerAntragsteller_Duftstoffe_node.html
12. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Kennzeichnung von Kosmetik [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/03_Verbraucherprodukte/02_Verbraucher/03_Kosmetik/02_KennzeichnungKosmetik/bgs_kosmetik_kennzeichnung_node.html
13. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Kosmetik [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/03_Verbraucherprodukte/02_Verbraucher/03_Kosmetik/bgs_Kosmetik_node.html
14. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Rechtliche Rahmenbedingungen für Kosmetika [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/03_Verbraucherprodukte/03_Antragsteller Unternehmen/08_Rechtsvorschriften/01_Kosmetik/bgs_kosmetik_gesetzliche_grundlagen_node.html

15. Celeiro, M.; Guerra, E.; Lamas, J. P.; Lores, M.; Garcia-Jares, C.; Llompart, M.: Development of a multianalyte method based on micro-matrix-solid-phase dispersion, for the analysis of fragrance allergens and preservatives in personal care products. *Journal of Chromatography*, 2014
16. Chisvert, A.; Lopez-Nogueroles, M.; Salvador, A.: Determination of atranol and chloroatranol in perfumes using simultaneous derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2014
17. Deutsche Gesellschaft für Massenspektrometrie: Massenspektrum [online], [Zugriff am 27.05.2021]. Verfügbar unter:
<https://dgms.eu/de/ueber-uns-dgms/das-ist-massenspektrometrie/massenspektrum/>
18. Desmedt, B.; Canfyn, M.; Pype, M.; Baudewyns, S.; Hanot, V.; Courselle, P.; De Beer, JO.; Rogiers, V.; De Paepe, K.; Deconinck, E.: HS-GC-MS method for the analysis of fragrance allergens in complex cosmetic matrices. *Talanta*. 2015 [online], [Zugriff am 29.04.2021]. Verfügbar unter:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25281125/>
19. DIN EN 16274: Analyseverfahren für Allergene - Quantifizierung von mutmaßlichen Allergie auslösenden Duftstoffen in Verbrauchsgütern - Stufe 1: GC-Analyse von einspritzfertigen Proben; Deutsche Fassung EN 16274:2012
20. DIN EN 16274: Analyseverfahren für Allergene - Quantifizierung einer erweiterten Liste von zu vermutenden Allergenen in einspritzfertigen Duftstoffen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie; Deutsche und Englische Fassung prEN 16274:2020
21. Duden Learnattack: Duftstoffe, 2010 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.lernhelfer.de/schuelerlexikon/chemie/artikel/duftstoffe>

22. Eschke, H.-D.; Traud, J.; Dibowski, H.-J.: Untersuchungen zum Vorkommen polycyclischer Moschus-Duftstoffe in verschiedenen Umweltkompartimenten, 1994. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF03166352>
23. Futh, Susanne: Entwicklung einer Methode mittels Gaschromatographie und gekoppeltem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer zur Quantifizierung von Estrogen-Metaboliten in humanem Brustgewebe, 2015. [online], [Zugriff am 21.06.2021]. Verfügbar unter:
https://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de/opus4-wuerzburg/frontdoor/deliver/index/docId/11880/file/Dissertation_Futh_Susanne_Estradiolmetabolitanalytik.pdf
24. Gasparini, G.; Semaoui, S.; Augugliaro, J.; Boschung, A.; Berthier, D.; Seyfried, M.; Begnaud, F.: Quantification of Residual Perfume by Py-GC-MS in Fragrance Encapsulate Polymeric Materials Intended for Biodegradation Tests. *Molecules*. 2020 [online], [Zugriff am 29.04.2021]. Verfügbar unter:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32046014/>
25. Gerstel: Duftstoff-Profilung [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://www.gerstel.de/de/GA45_DHS-FET.htm
26. Goldhahn, S.: Validierung einer Multimethode zur Bestimmung der Vitamine B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₇, B₉, B₁₂ sowie A, D, E und K in Lebensmitteln mittels LC-MS/MS, 2017. [online], [Zugriff am 21.06.2021]. Verfügbar unter:
<https://digibib.hs-nb.de/mcrviewer/recordIdentifier/thesis2017-0574/Bachelorarbeit-Goldhahn-2017.pdf?page=1>
27. Greim, H.: Das Toxikologiebuch. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2017
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527695447.ch42>
28. Gressner, A. M.; Arndt, T.: Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 3.Auflage. Heidelberg, Berlin: Springer Verlag, 2019

29. Griem, P.; Schnuch, A.: Fragrances as allergens, 2017. [online], [Zugriff am 15.03.2021].
Verfügbar unter:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s15007-018-1675-y>
30. Hadžić, J.: Diplomarbeit-Nachweis von Terpenen und deren Metaboliten in biologischen Flüssigkeiten, 2011. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://core.ac.uk/download:/pdf/11594181.pdf>
31. Harris, D. C.: Lehrbuch der Quantitativen Analyse. 8. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2014
32. Heidenreich, A.: Dissertation-Methodenentwicklung zur Charakterisierung und Quantifizierung von kosmetiktypischen Polymerenmittels Pyrolyse-Gaschromatographie/ Massenspektrometrie, 2005. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://ediss.sub.uni-hamburg.de/bitstream/ediss/1229/1/Dissertation_Anja_Heidenreich.pdf
33. Hert, M.: Diplomarbeit-Qualitative und quantitative Analyse ausgewählter Zitrusöle, 2018. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://unipub.uni-graz.at/obvugrhs/download/pdf/2859137?originalFilename=true>
34. Kannenberg, F.: Chromatographie und Massenspektrometrie, 2021, [online], [Zugriff am 27.05.2021]. Verfügbar unter:
http://www.klichi.uni-muenster.de/examate/Vorlesung_Kannenberg_Chromatographie_Massenspektrometrie_Folien.pdf
35. Karow, W.: MS-Probenvorbereitung, 2013 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.uni-due.de/chemie/massenspektrometrie/ms-probenvorbereitung.shtml>

36. Kiel, J.; Linnemann, J.: Kontaktallergien und weitere Gesundheitsrisiken durch Duftstoffe, 2020 [online], [Zugriff am 20.05.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.allum.de/stoffe-und-ausloeser/duftstoffe-und-geruchsstoffe/kontaktallergien-gesundheitsrisiken-duftstoffe>
37. Kindl, U.; Raab, W.: Pflegekosmetik. 5. Auflage. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2012
38. Kirsten, A.: Duftstoffallergie, 2013 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.apotheken-umschau.de/krankheiten-symptome/allergien/duftstoffallergie-743309.html>
39. Klaschka, U.: Allergene Duftstoffe: Welche Kosmetikprodukte sind empfehlenswert?, 2010 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s12302-010-0130-9>
40. Kolb, B.: Gaschromatographie in Bildern. 2. Auflage. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2002
41. Kröpke, R.: Duftstoffe [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.cosmacon.de/duftstoffe/>
42. Legrum, W.: Riechstoffe, zwischen Gestank und Duft. 2. Auflage. Wiesbaden: Springer Spektrum, 2015
43. Matissek, R., Steiner, G., Fischer, M.: Lebensmittelanalytik. 6. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2018
44. Meiners, F.: Zur Interpretation einer Liste von Parfüm-Inhaltsstoffen, 2016. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://www.chemieunterricht.de/dc2/tip/12_15-01.htm

45. Nagorka, R.; Straff, W.; Wolter, E.: Duftstoffe-chemische Begleiter des Alltags, 2016 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/1968/publikationen/160930_uba_rg_duftstoffe_barrierefrei.pdf
46. Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Allergene Duftstoffe in kosmetischen Mitteln sowie Wasch- und Reinigungsmitteln [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://www.laves.niedersachsen.de/startseite/bedarfsggegenstande/kosmetische_mittel/allergene-duftstoffe-in-kosmetischen-mitteln-sowie-wasch--und-reinigungsmitteln-73434.html
47. Nickel, S.: Duftstoffe [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://www.allergy-guide.com/allergien/kosmetikinhaltsstoffe/duftstoffe>
48. Ritgen, U.: Analytische Chemie I. Berlin: Springer-Verlag, 2019
49. Ritgen, U.: Analytische Chemie II. Berlin: Springer-Verlag, 2020
50. Sánchez-Guijo, A.; Hartmann, M.; Wudy, S.: Introduction to Gas Chromatography-Mass Spectrometry. New York: Springer Science+Business Media, 2013
51. Schmid, T.: Vorlesung-Analytische Chemie. Zürich, 2011 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
https://www.analytik.ethz.ch/vorlesungen/biopharm/Trennmethoden/AnalytischeChemie_Skript_6_Probenvorbereitung.pdf
52. Schnuch, A.: Epidemiologie von Kontaktallergien auf Duftstoffe, 2017. [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
http://gd-online.de/german/veranstalt/images2017/21.GD_JT_2017_ABSTRACTS_WH_TEIL_2_A_Schnuch.pdf

53. Schug, K. A.: Probenvorbereitung in der Massenspektrometrie, 2014 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter:
<https://analyticalscience.wiley.com/doi/10.1002/gitfach.12743>
54. Shimadzu News: TD-20 Thermodesorptionssystem: direkte Thermoextraktion von Duftstoffen aus Kosmetikprodukten, 2007.[online], [Zugriff am 05.04.2021]. Verfügbar unter:
https://shimadzu.com.au/sites/default/files/GCMS_Duftstoffe_News_02_2007_ger.pdf
55. Stauffer, D.: Das Chromatogramm, 2008 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: https://application.wiley-vch.de/books/sample/3527317740_c01.pdf
56. Verordnung (EG) Nr. 1223/2009 des europäischen Parlaments und des Rates vom 30.November 2009 über kosmetische Mittel [online], [Zugriff am 28.04.2021]. Verfügbar unter:
<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:de:P DF>
57. Weseloh, C.: Allergene Duftstoffe, 2017 [online], [Zugriff am 15.03.2021]. Verfügbar unter: <https://www.allergie.de/allergene-duftstoffe/>
58. Worret, W.-I.; Gehring, W.: Kosmetische Dermatologie. 1.Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin, 2004.

8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<u>Abbildungen:</u>	Seite
Abbildung 1: Angabe aller Bestandteile auf einer kosmetischen Verpackung	11
Abbildung 2: Injektor bei der GC im splitless- und split-Betrieb	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Ionenquelle mit Elektronenstoßionisation	19
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Quadrupol-Massenfilters	20
Abbildung 5: Beispielhafte Darstellung zur Bestimmung der Produktionsen	49
Abbildung 6: Darstellung der Responsefaktoren der jeweiligen Duftstoffe (100 µg/l) und Retentionszeiten	53

<u>Tabellen:</u>	Seite
Tabelle 1: Auflistung der deklarationspflichtigen Duftstoffe	10
Tabelle 2: Liste der verwendeten Materialien	22
Tabelle 3: Liste der verwendeten Chemikalien	23
Tabelle 4: Liste der verwendeten Duftstoff-Standards	24
Tabelle 5: Liste der verwendeten Geräte	26
Tabelle 6: Temperaturprogramm der ersten Analysen und beim Tuning mittels DB-WAX-Säule	27
Tabelle 7: Temperaturprogramm der ersten Analysen und beim Tuning mittels DB-1-Säule	28
Tabelle 8: Temperaturprogramm bei der GC-FID unter Verwendung einer DB-1-Säule	28
Tabelle 9: Temperaturprogramm für Versuche mit der DB-1-Säule (wie bei der GC-FID)	29
Tabelle 10: Temperaturprogramm für Versuche mit der HP-5-Säule	30
Tabelle 11: Temperaturprogramm für Versuche mit der DB-Wax-Säule/finale Methode	30
Tabelle 12: Abstufungen der Kollisionsenergie	33
Tabelle 13: Ermittelte Retentionszeiten und Detektionsreihenfolge mit einer GC-FID-Methode	35
Tabelle 14: Verwendete Massenübergänge der Duftstoffe für die Methode mittels der DB-1-Säule	37
Tabelle 15: Analysegruppen der Duftstoffe, entsprechend der Retentionszeiten auf der DB-1-Säule	39
Tabelle 16: Auflistung der Duftstoffe: bei 100 µg/l eindeutiger Peak bei Detektion mit der DB-1-Säule	41
Tabelle 17: Retentionszeiten der Duftstoffe aus dem ersten Scan mittels einer DB-1-Säule	48
Tabelle 18: Gruppeneinteilung und die jeweiligen Massenübergänge der Duftstoffe bei der Detektion mit einer DB-WAX-Säule	50
Tabelle 19: Varianzen der erstellten Kalibrationsgeraden	54
Tabelle 20: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der 28 Duftstoffe	59
Tabelle 21: Bestimmung der Wiederholbarkeit	61
Tabelle 22: Ergebnisse zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung	64
Tabelle 23: Ergebnisse zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance	66
Tabelle 24: Bestimmung der Wiederfindungsrate der 28 Duftstoffe	68

9 Anlagen

	Seite
Anlage 1: Gesamte Massenübergänge der 28 Duftstoffe	84
Anlage 2: Auswahl der größten und störungsfreisten Massenübergänge jedes Duftstoffes auf einer DB-1-Säule	88
Anlage 3: Peaks der Duftstoffe, welche auf der HP-5-Säule schlecht zu detektieren sind	91
Anlage 4: Retentionszeiten der Duftstoffe bei der Analyse mittels einer HP-5-Säule	100
Anlage 5: Massenspektren und Strukturformeln der Duftstoffe	101
Anlage 6: Darstellung der Kalibrationsgeraden der 28 Duftstoffe, inklusive Ausreißer	129
Anlage 7: Einzelwerte zur Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze	139
Anlage 8: Einzelwerte zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance	142

Anlage 1: Gesamte Massenübergänge der 28 Duftstoffe

Duftstoff	Interne Nummer	Masseübergänge (CE)	Duftstoff	Interne Nummer	Masseübergänge (CE)
Benzylalkohol	1369	108 → 79 (10) 107 → 77 (30) 107 → 79 (10) 107 → 77 (30) 79 → 77 (10) 79 → 51 (30) 77 → 51 (10)	Majantol	1562	178 → 106 (10) 178 → 91 (40) 106 → 91 (10) 106 → 65 (30) 91 → 65 (25)
Limonen	1670	121 → 93 (10) 136 → 93 (10) 136 → 77 (30) 121 → 77 (30) 93 → 77 (10) 93 → 51 (30)	Isoeugenol	1548	164 → 149 (10) 164 → 103 (20) 131 → 103 (20)
Linalool	1547	136 → 121 (10) 136 → 93 (10) 121 → 105 (20) 121 → 93 (10) 93 → 77 (10) 93 → 51 (30) 71 → 43 (10)	Chloratranol	1666	185 → 129 (15) 185 → 65 (20) 65 → 39 (10) 140 → 77 (10)
Methylheptin-carbonat	1544	123 → 67 (10) 123 → 55 (10) 153 → 121 (10) 153 → 93 (10) 153 → 77 (30) 123 → 41 (30) 95 → 67 (10) 95 → 55 (10)	Alpha-Isomethyl-Ionon	1564	206 → 191 (10) 150 → 135 (35) 135 → 79 (15) 135 → 91 (15) 135 → 107 (10)

		95 → 41 (30)			
Citronellol	1552	156 → 95 (10) 156 → 81 (15) 156 → 67 (30) 123 → 81 (10) 123 → 55 (10) 95 → 67 (10) 95 → 55 (10) 69 → 53 (10)	Lilial	1665	189 → 117 (30) 189 → 91 (30) 189 → 131 (10) 204 → 131 (30) 204 → 189 (10) 204 → 91 (40) 131 → 91 (15)
Citral	1559	152 → 137 (15) 152 → 109 (10) 109 → 94 (10) 109 → 81 (10) 94 → 79 (10) 69 → 41 (10)	Atranol	1669	151 → 95 (10) 151 → 67 (10) 151 → 41 (30) 152 → 106 (30) 152 → 67 (30) 106 → 77 (10) 106 → 52 (10)
Zimtaldehyd	1554	131 → 103 (10) 131 → 77 (30) 103 → 77 (10)	Amylzimt- aldehyd	1551	202 → 129 (10) 202 → 145 (25) 202 → 91 (40) 202 → 117 (30) 129 → 77 (40) 117 → 91 (30) 117 → 65 (35)
Geraniol	1543	139 → 121 (10) 139 → 93 (10) 139 → 43 (10) 123 → 81 (10) 123 → 43 (10) 123 → 41 (30) 93 → 77 (10) 93 → 51 (30)	Lyril	1537	192 → 177 (10) 192 → 107 (10) 192 → 79 (30) 192 → 91 (25) 136 → 117 (10) 136 → 79 (10) 136 → 91 (30) 105 → 79 (10)

					105 → 77 (30) 105 → 51 (30)
Anisalkohol	1546	138 → 109 (5) 138 → 107 (5) 121 → 78 (25) 109 → 77 (25) 109 → 94 (15)	Amylzimt- alkohol	1542	202 → 145 (30) 202 → 117 (30) 186 → 129 (20) 186 → 115 (35) 129 → 102 (30) 129 → 77 (30) 115 → 89 (30) 115 → 63 (30) 91 → 65 (25)
Hydroxy- citronellal	1556	71 → 53 (10) 71 → 43 (10) 59 → 43 (25) 139 → 121 (10) 139 → 93 (10) 139 → 77 (25) 139 → 43 (10)	Farnesol	1555	161 → 105 (15) 161 → 81 (10) 161 → 41 (40) 136 → 121 (10) 136 → 93 (10) 93 → 77 (10) 69 → 41 (10)
Zimtalkohol	1549	134 → 92 (10) 115 → 89 (20) 105 → 77 (25) 92 → 65 (30)	Hexylzimt- aldehyd	1550	215 → 145 (15) 215 → 115 (30) 215 → 91 (30) 145 → 117 (10) 145 → 91 (30) 129 → 77 (30) 117 → 91 (15)
Eugenol	1117	164 → 103 (20) 164 → 149 (10) 131 → 77 (30) 131 → 103 (20)	Benzyl- benzoat	940	212 → 167 (15) 212 → 165 (30) 212 → 105 (15) 212 → 77 (30) 194 → 165 (20) 105 → 77 (10)

					105 → 51 (20)
Methyleugenol	1116	178 → 107 (10) 178 → 163 (20) 178 → 147 (30) 109 → 107 (10)	Benzyl- salicylat	1553	228 → 91 (10) 91 → 65 (10) 91 → 51 (30)
Cumarin	1438	146 → 118 (10) 146 → 89 (30) 118 → 63 (35) 118 → 90 (10) 90 → 63 (30) 89 → 63 (25)	Benzyl- cinnamat	1545	238 → 193 (10) 238 → 115 (30) 238 → 178 (30) 238 → 91 (30) 192 → 165 (35) 192 → 115 (30) 131 → 77 (30) 131 → 103 (10) 91 → 65 (10)

Anlage 2: Auswahl der größten und störungsfreisten Massenübergänge jedes Duftstoffes auf einer DB-1-Säule

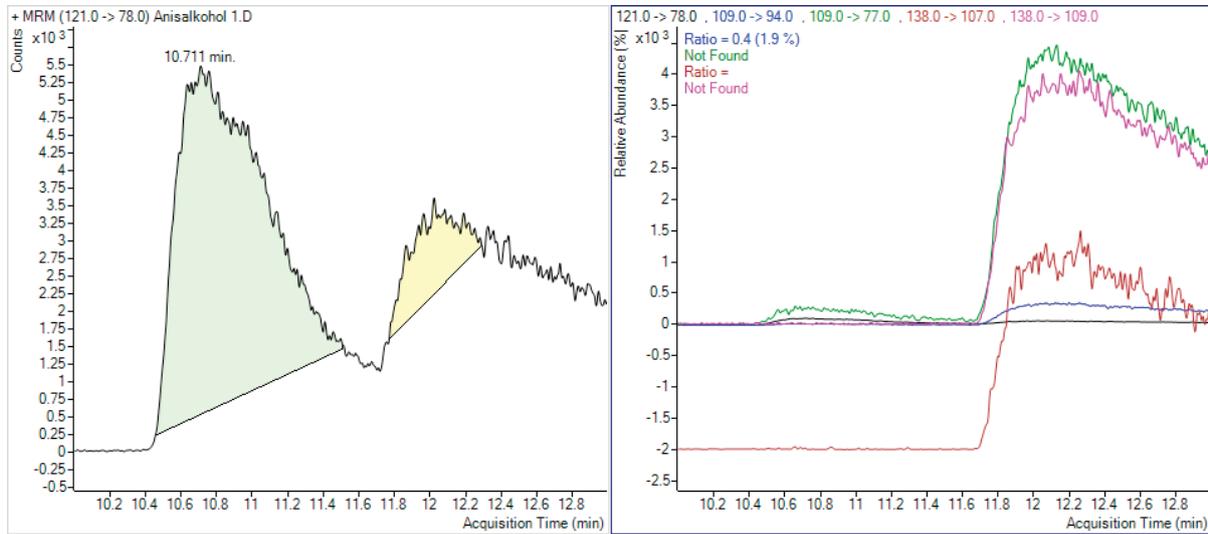
Duftstoff	besten Massenübergänge	Duftstoff	besten Massenübergänge
Benzylalkohol	108 → 79 (10) 107 → 77 (30) 107 → 79 (10)	Majantol	106 → 91 (10) 106 → 65 (30) 91 → 65 (25) 178 → 106 (10) 178 → 91 (40)
Limonen	93 → 77 (10) 93 → 51 (30) 121 → 93 (10) 121 → 77 (30) 136 → 77 (30) 136 → 93 (10)	Isoeugenol	
Linalool	93 → 77 (10) 93 → 51 (30) 121 → 93 (10) 136 → 121 (10)	Chloratranol	
Methylheptincarboxat	123 → 67 (10) 123 → 55 (10) 123 → 41 (30) 95 → 67 (10)	Alpha-Isomethyl-Ionon	150 → 135 (10) 135 → 91 (15) 135 → 79 (15) 135 → 107 (10)
Citronellol	123 → 81 (10) 95 → 67 (10) 95 → 55 (10) 123 → 55 (10) 156 → 81 (15)	Lilial	189 → 131 (10) 189 → 91 (30) 131 → 91 (15) 189 → 117 (30) 204 → 189 (10)

Citral	94 → 79 (10) 109 → 81 (10) 109 → 94 (10)	Atranol	
Zimtaldehyd	131 → 77 (30) 103 → 77 (10) 131 → 103 (10)	Amylzimtaldehyd	117 → 91 (30) 129 → 77 (40) 117 → 65 (35) 202 → 91 (40) 202 → 129 (10) 202 → 145 (25)
Geraniol		Lyral	136 → 79 (10) 136 → 91 (30) 136 → 117 (10)
Anisalkohol	138 → 109 (5) 109 → 77 (15) 109 → 94 (15) 121 → 78 (25)	Amylzimtalkohol	
Hydroxycitronellal	59 → 43 (25) 71 → 53 (10) 139 → 121 (10) 139 → 43 (10) 139 → 93 (10)	Farnesol	
Zimtalkohol		Hexylzimtaldehyd	145 → 117 (10) 145 → 91 (30) 215 → 145 (15) 215 → 115 (30) 215 → 91 (30)
Eugenol	164 → 149 (10) 131 → 77 (30) 164 → 103 (20) 131 → 103 (20)	Benzylbenzoat	105 → 77 (10) 194 → 165 (20) 212 → 167 (15) 212 → 105 (15)

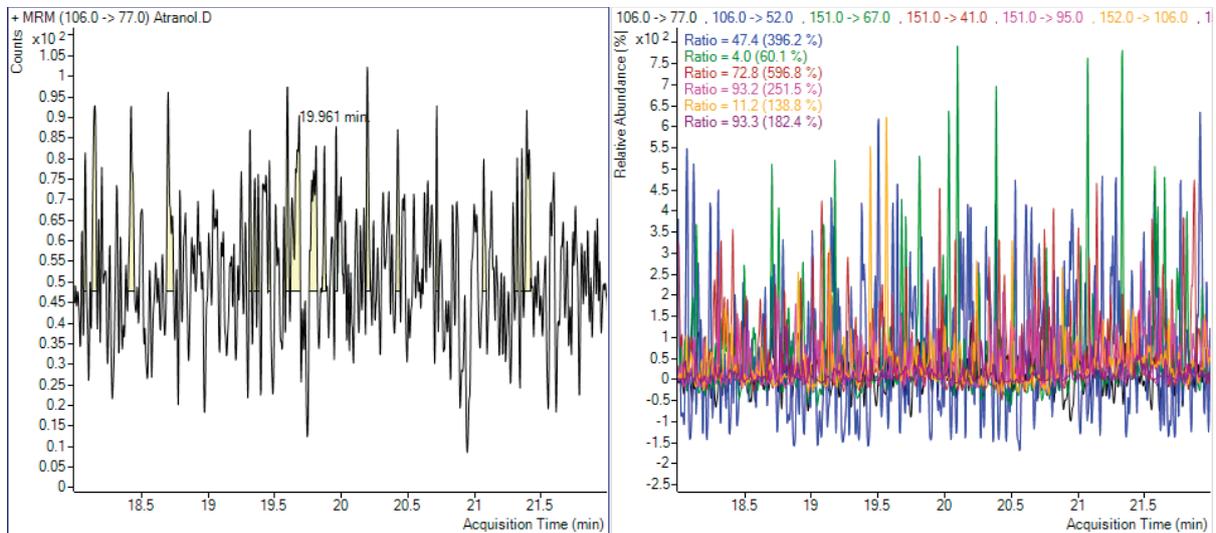
			212→ 165 (30) 212→ 77 (30)
Methyleugenol	178→ 107 (10) 178→ 163 (20) 178→ 147 (30) 109→ 107 (10)	Benzylsalicylat	228→ 91 (10) 91→ 65 (10) 91→ 51 (30)
Cumarin	146→ 118 (10) 146→ 89 (30) 118→ 90 (10) 118→ 63 (35) 89→ 63 (30) 90→ 63 (25)	Benzylcinnamat	131→ 77 (30) 131→ 103 (10) 192→ 165 (35) 192→ 115 (30) 238→ 193 (10)

Anlage 3: Peaks der Duftstoffe, welche auf der HP-5-Säule schlecht zu detektieren sind

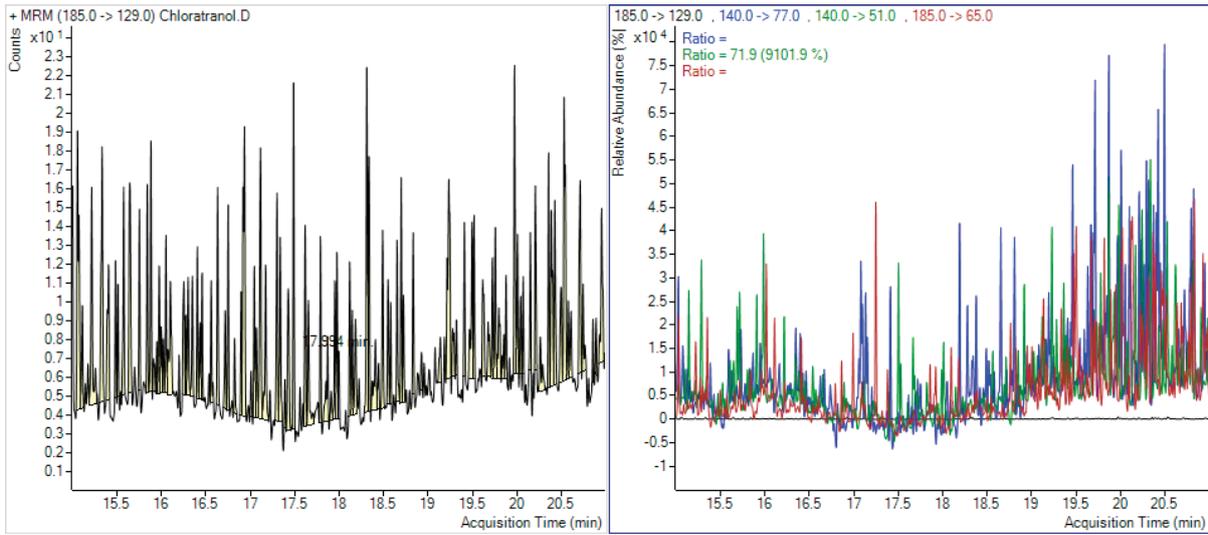
Anisalkohol (c= 1 mg/l)



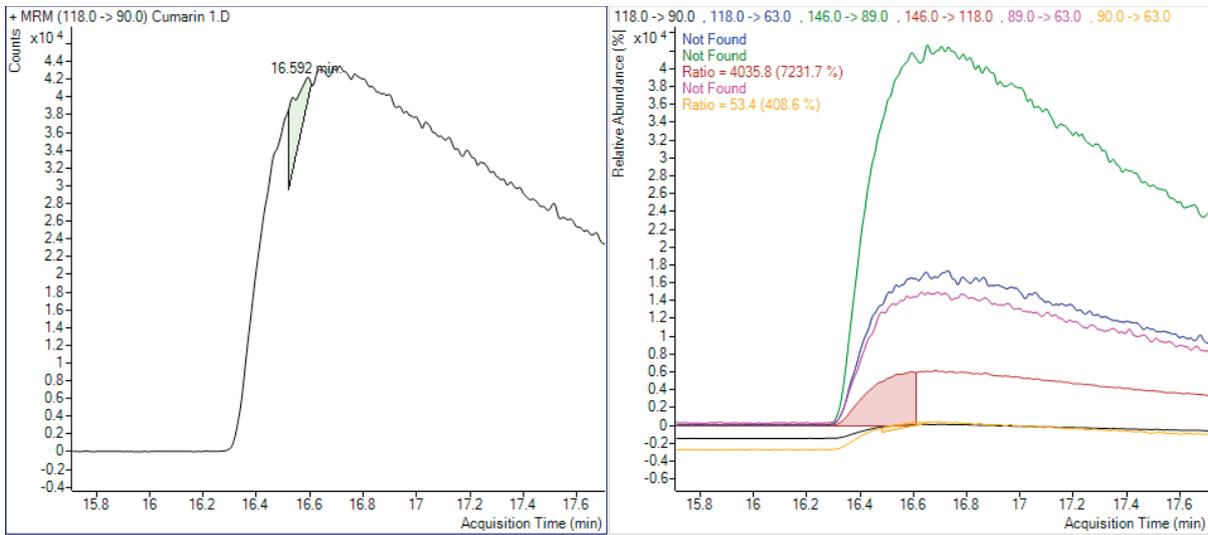
Atranol (c= 1 mg/l)



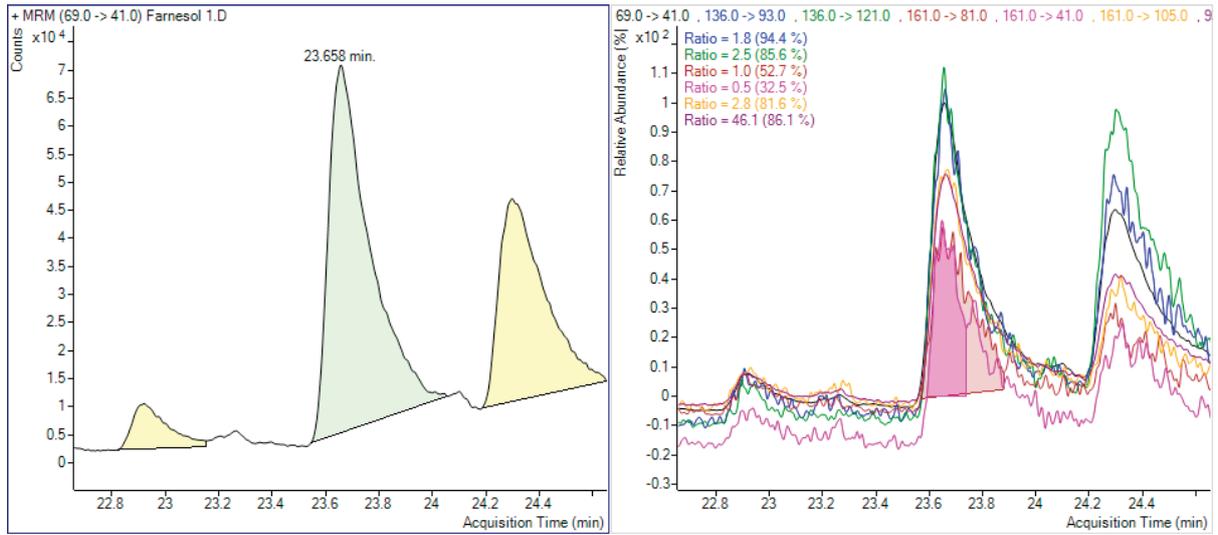
Chloratranol (c= 1 mg/l)



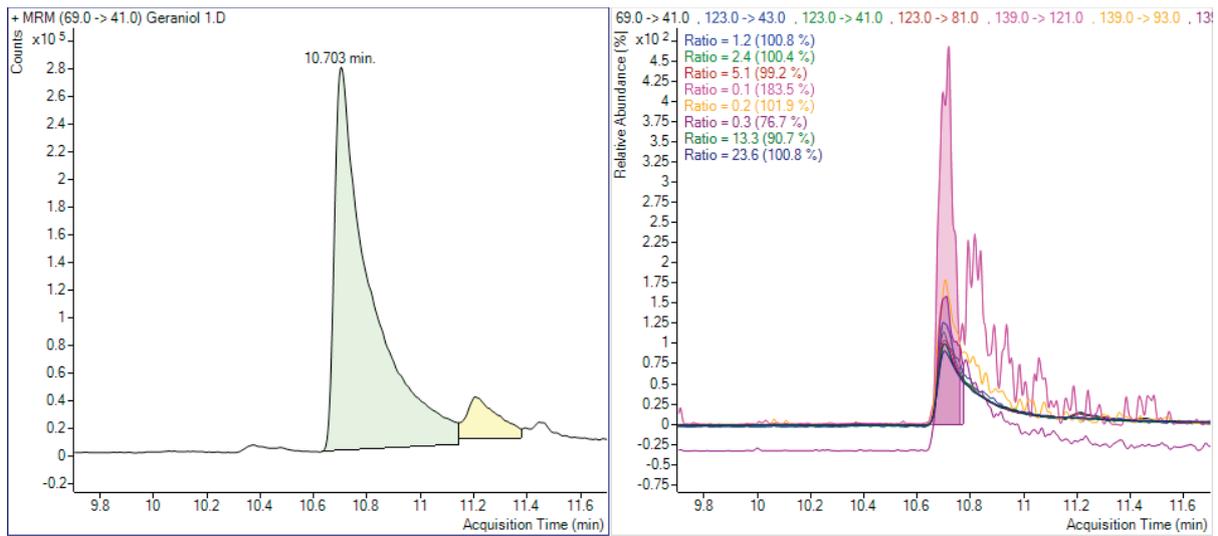
Cumarin (c= 1 mg/l)



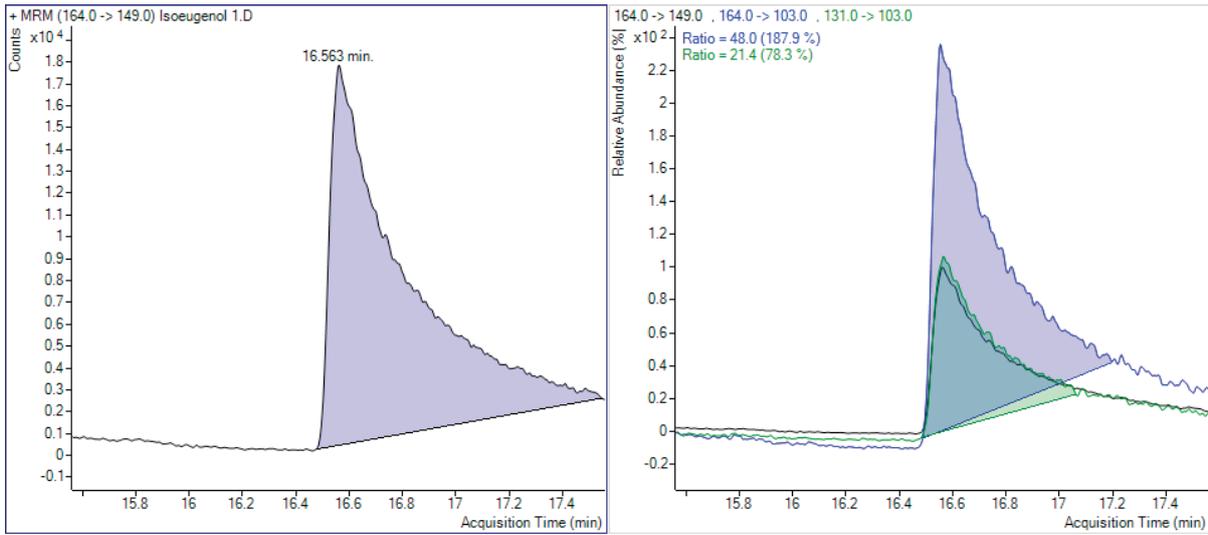
Farnesol (c= 1 mg/l)



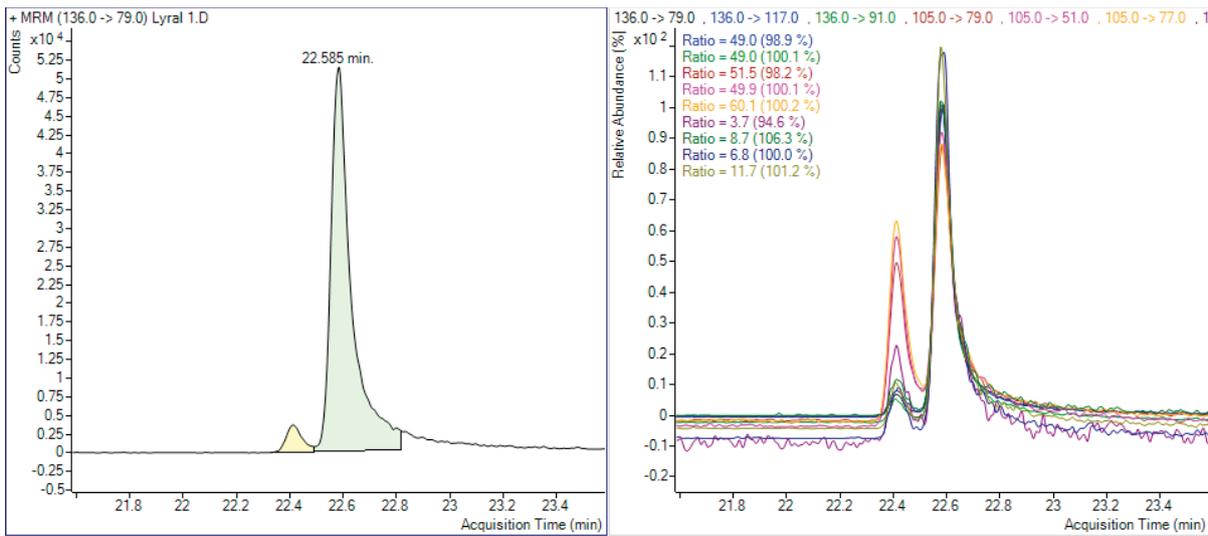
Geraniol (c= 1mg/l)



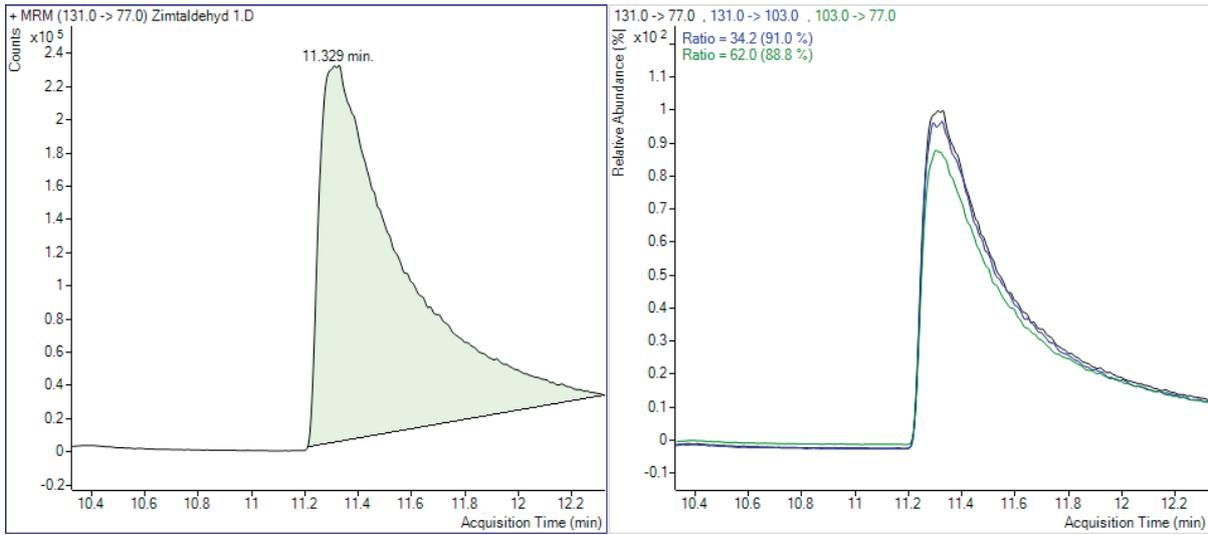
Isoeugenol (c= 1 mg/l)



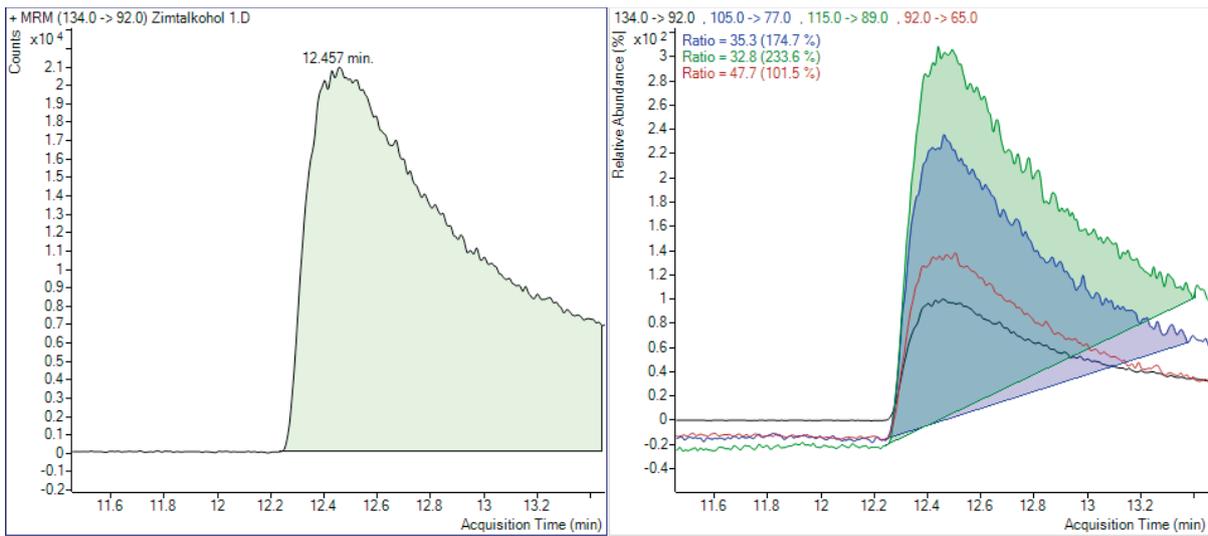
Lyraral (c= 1 mg/l)



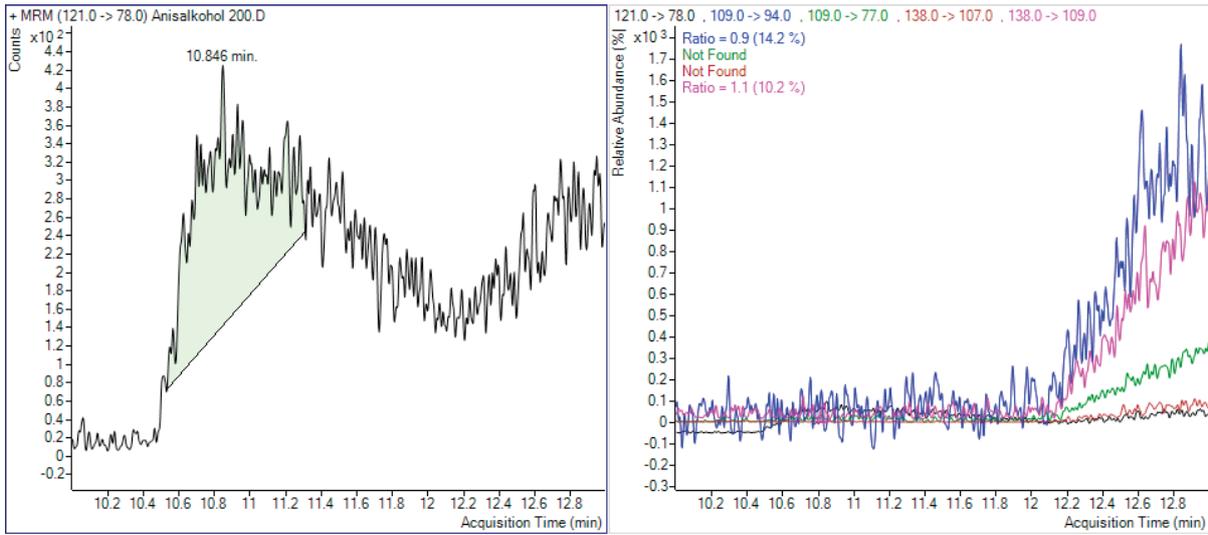
Zimtaldehyd (c= 1 mg/l)



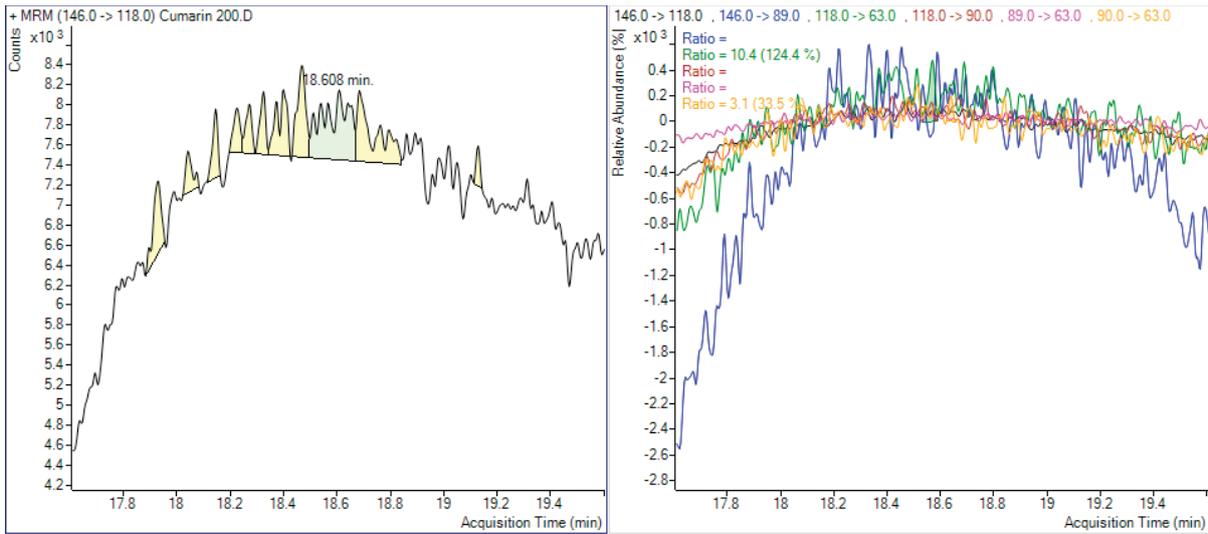
Zimtalkohol (c= 1 mg/l)



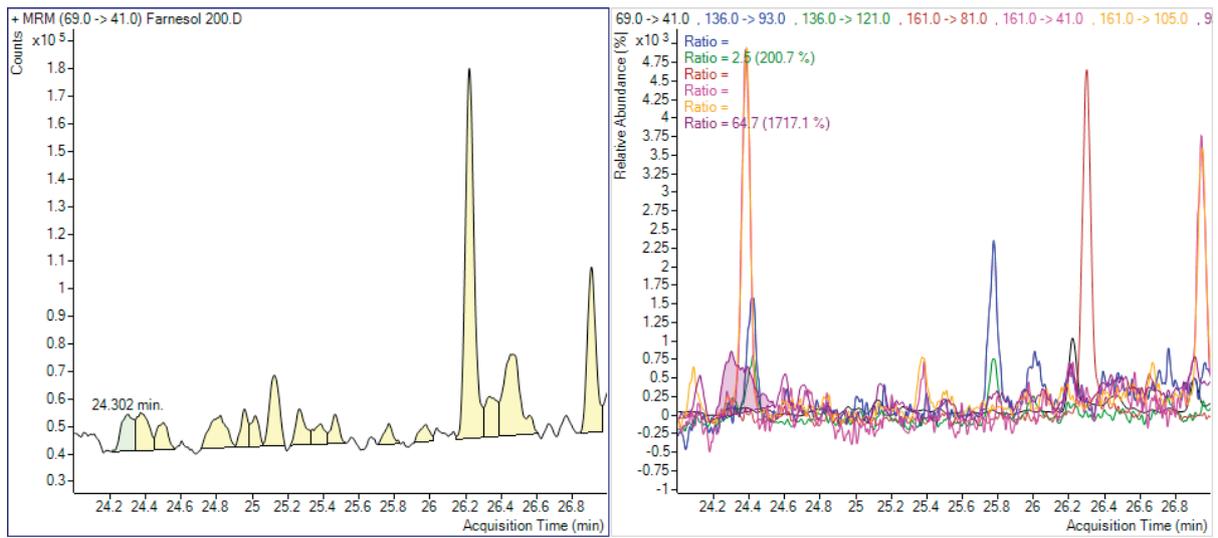
Anisalkohol (c= 200 µg/l)



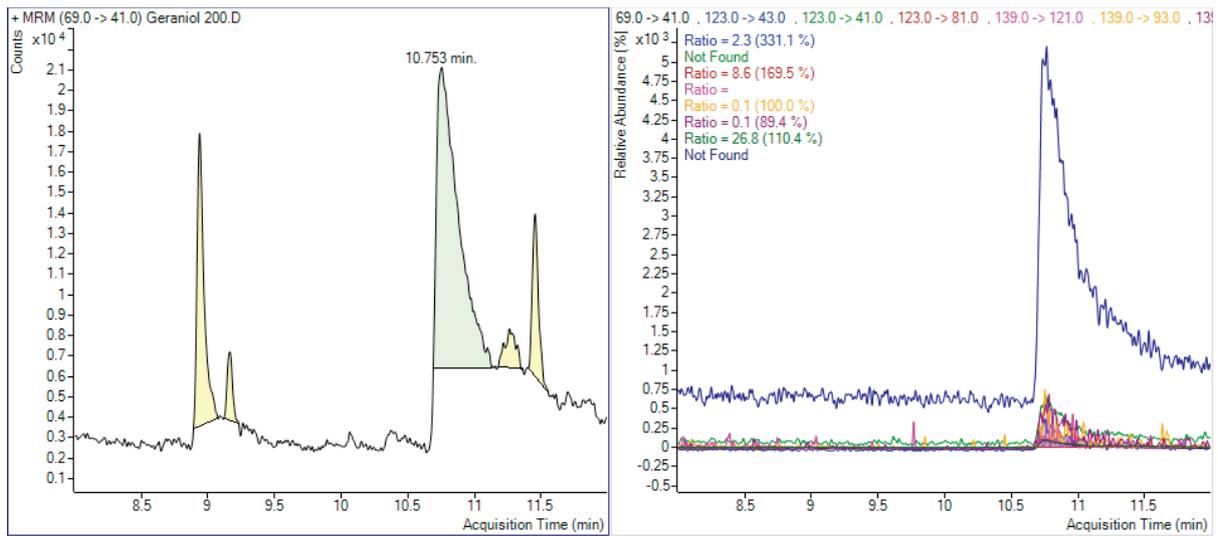
Cumarin (c= 200 µg/l)



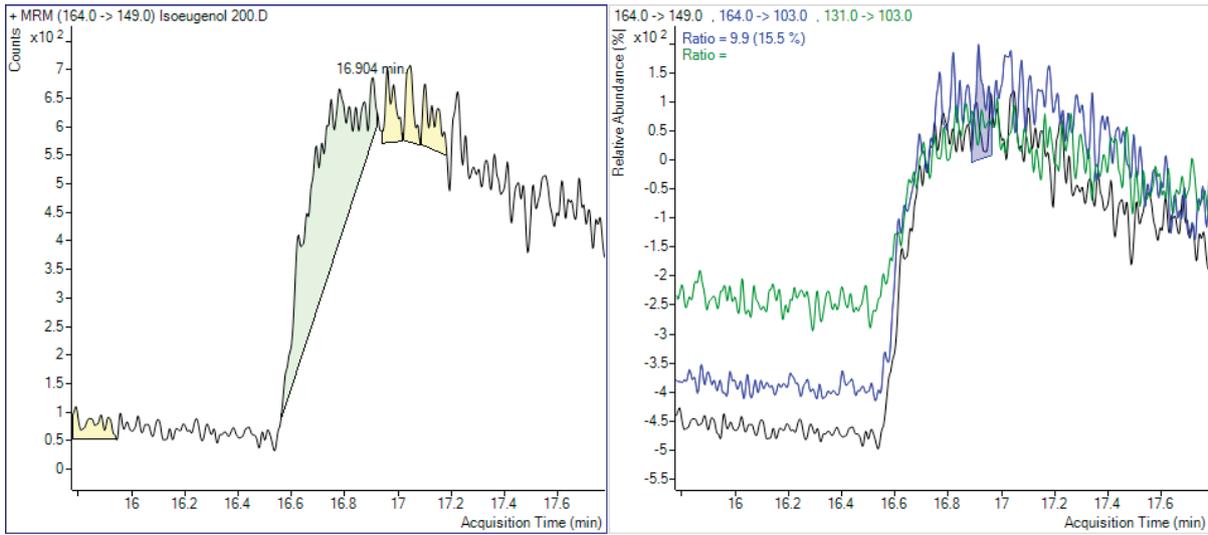
Farnesol (c= 200 µg/l)



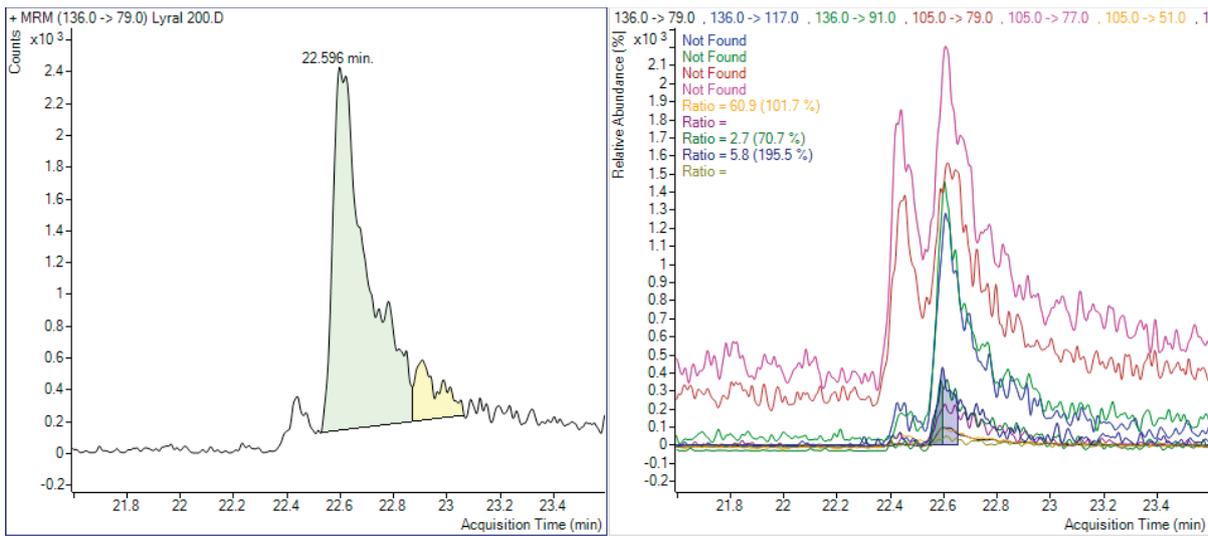
Geraniol (c= 200 µg/l)



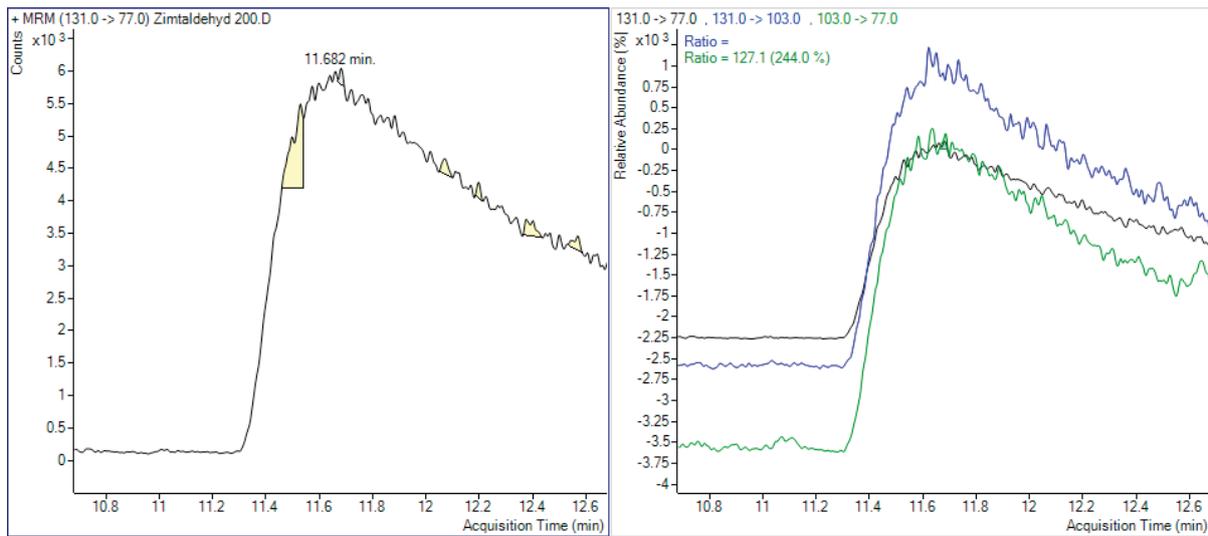
Isoeugenol (c= 200 µg/l)



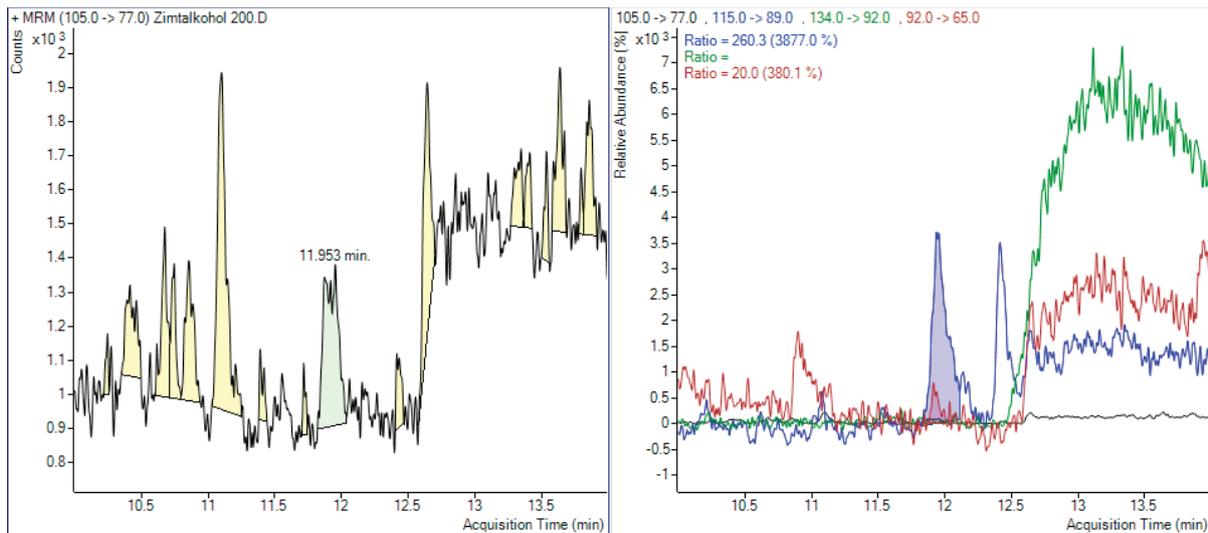
Lyral (c= 200 µg/l)



Zimtaldehyd (c= 200 µg/l)



Zimtalkohol (c= 200 µg/l)



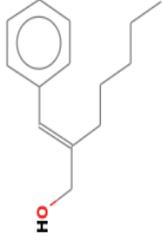
Anlage 4: Retentionszeiten der Duftstoffe bei der Analyse mittels einer HP-5-Säule

Duftstoff	Retentionszeit [min]	Duftstoff	Retentionszeit [min]
Limonen	5,27	Amylzimtaldehyd	22,2
Linalool	6,64	Amylzimtalkohol	23,3
Methylheptincarbonat	9,24	Anisalkohol	11,55
Citral	10,34 und 11,18	Zimtalkohol	12,22
Citronellol	9,93	Isoeugenol	16,53
Geraniol	10,69	Farnesol	23,6 und 24,24
Benzylalkohol	5,3	Hexylzimtaldehyd	24,89
Alpha-Isomethyl-Ionon	17,44	Cumarin	16,15
Hydroxycitronellal	11,64	Lylal	22,59
Methyleugenol	15,17	Benzylbenzoat	25,34
Zimtaldehyd	11,2	Benzylsalicylat	28
Lilial	18,8	Chloratranol	17,83
Majantol	15,43	Benzylcinnamat	32,64
Eugenol	13,77	Atranol	19,59

Anlage 5: Massenspektren und Strukturformeln der Duftstoffe

Amylzimtalkohol [CAS 101-85-9], M 204.3

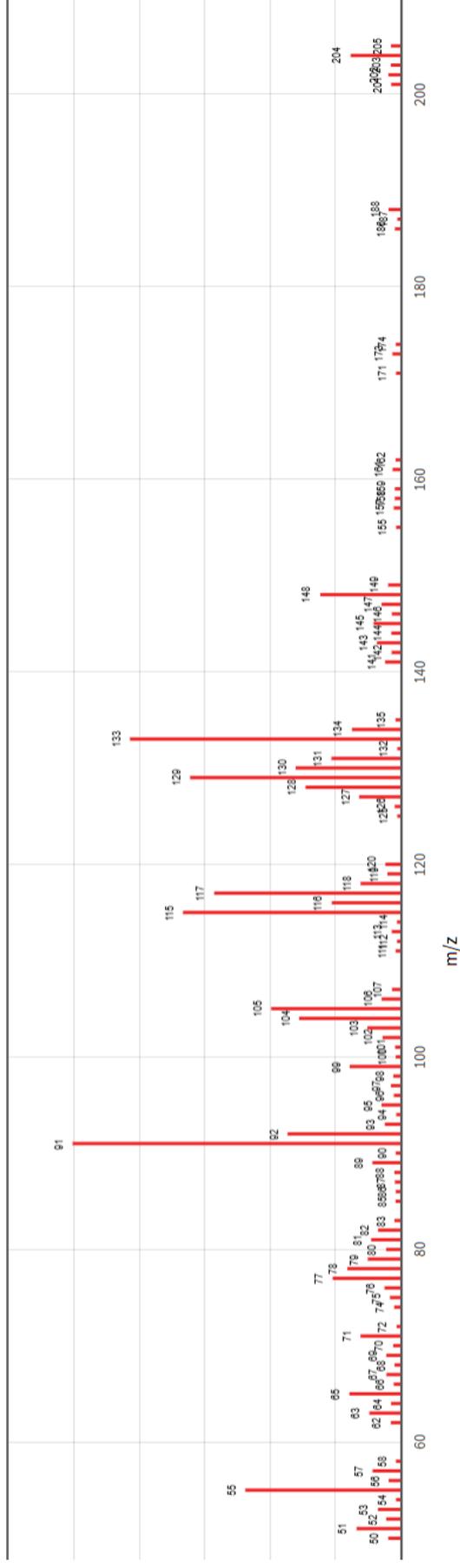
Möglicherweise 2 Isomere



Strukturformel:

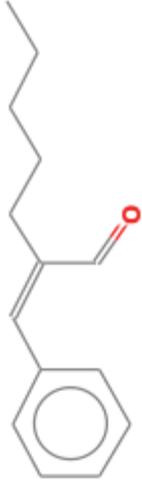
2-Benzylidene-1-heptanol

Mass Spectrum



Amylzimtaldehyd [CAS 122-40-7], M 202,3

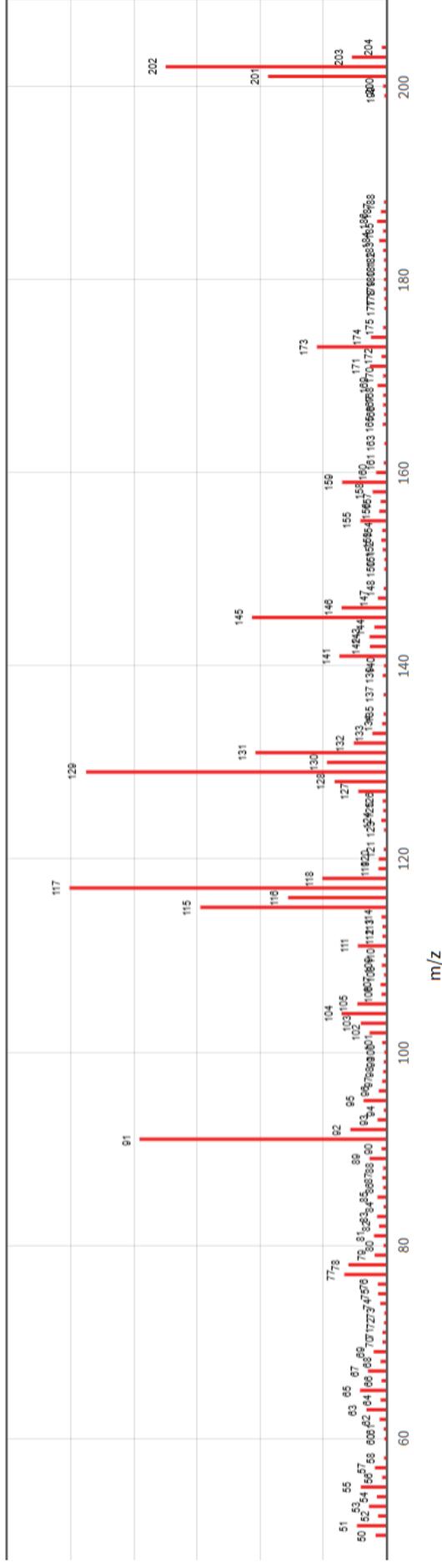
Möglicherweise 2 Isomere



Strukturformel:

Cinnamaldehyde, alpha-pentyl-

Mass Spectrum



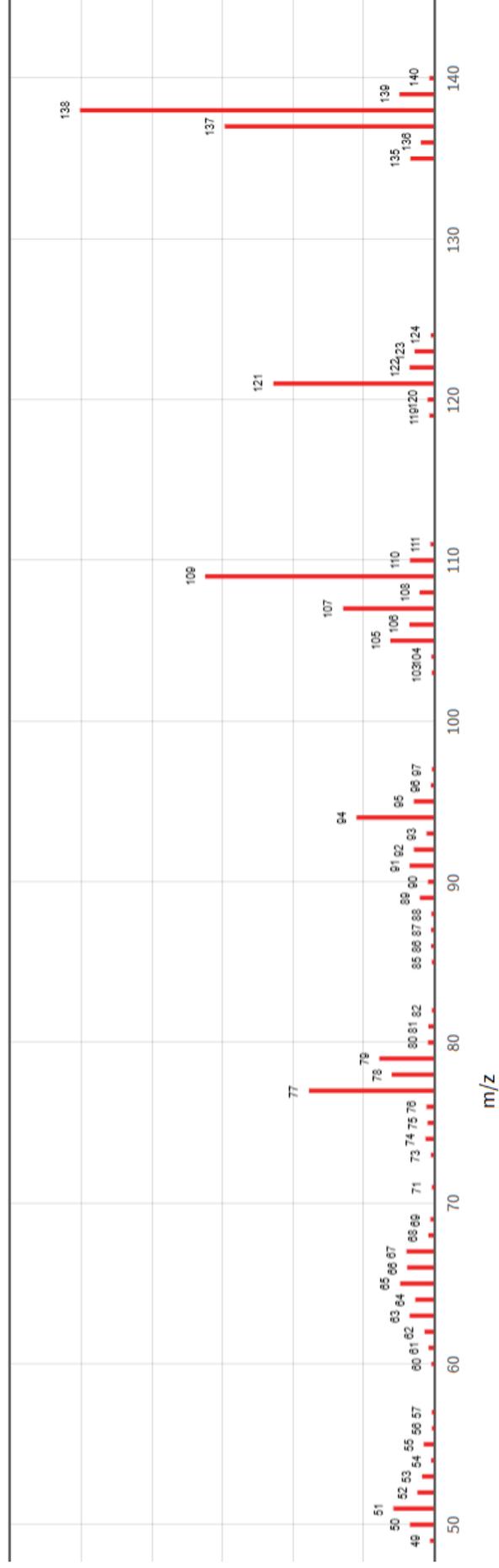
Anisalkohol [CAS 105-13-5], M 138,2



Strukturformel:

Benzenemethanol, 4-methoxy-

Mass Spectrum

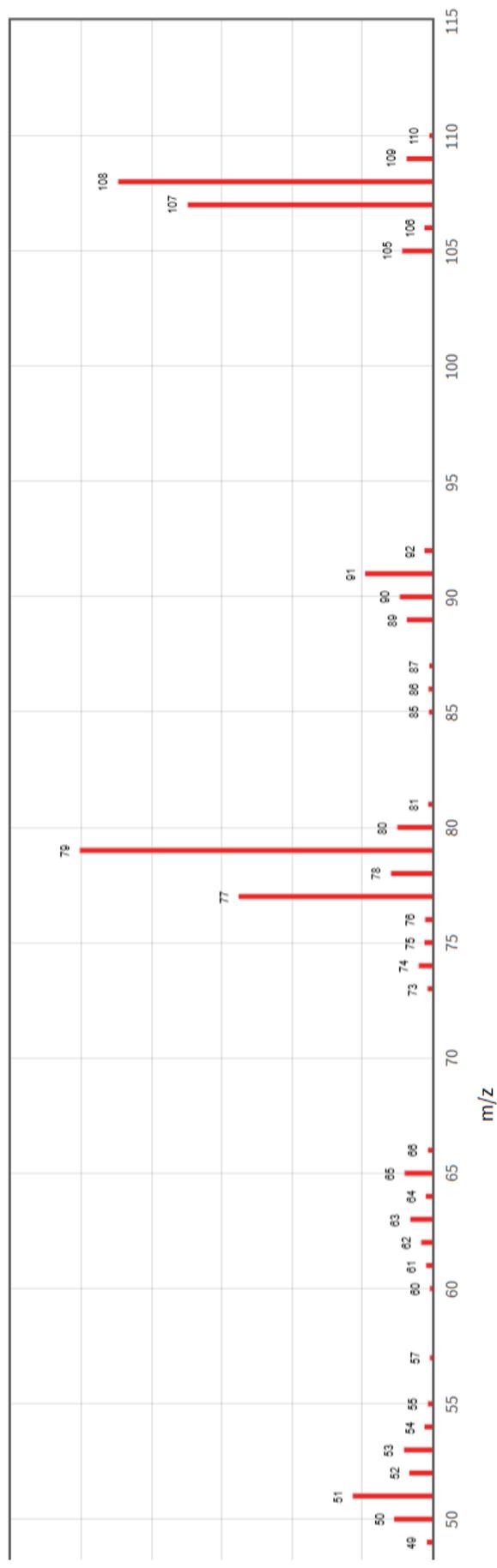


Benzylalkohol [CAS 100-51-6], M 108,1

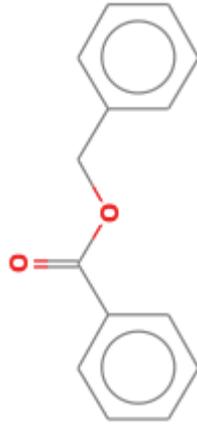
Strukturformel:

Benzyl alcohol

Mass Spectrum



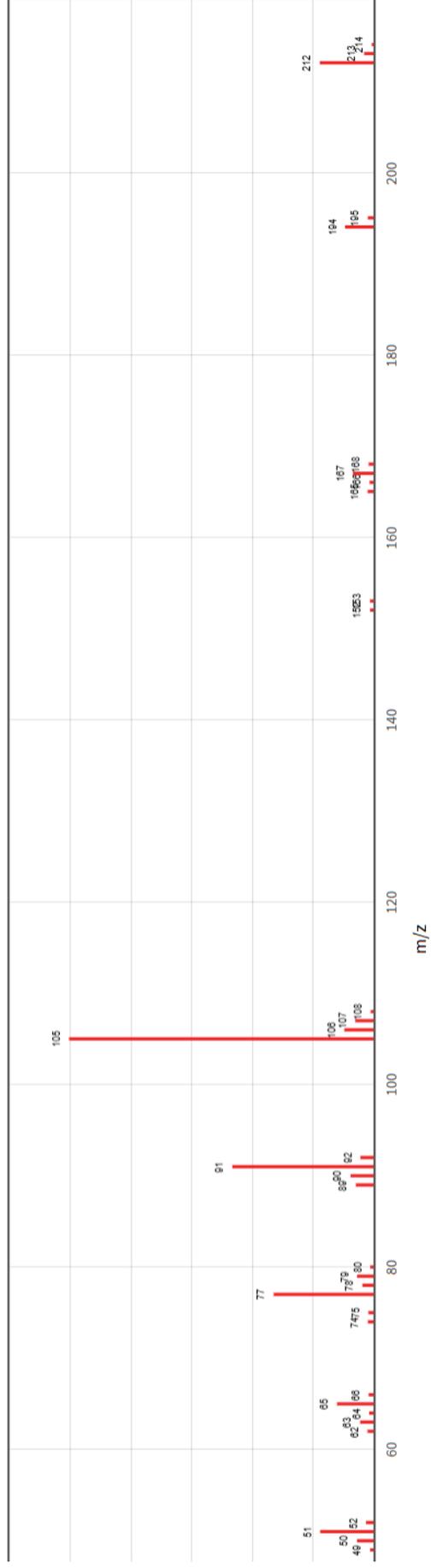
Benzylbenzoat [CAS 120-51-4], M 212,2



Strukturformel:

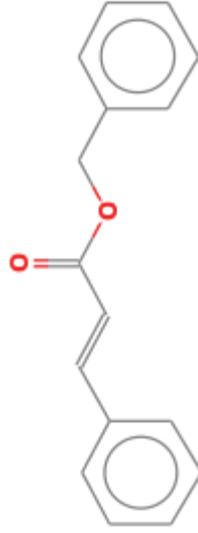
Benzyl Benzoate

Mass Spectrum



Benzylcinnamat [CAS 103-41-3], M 238,3

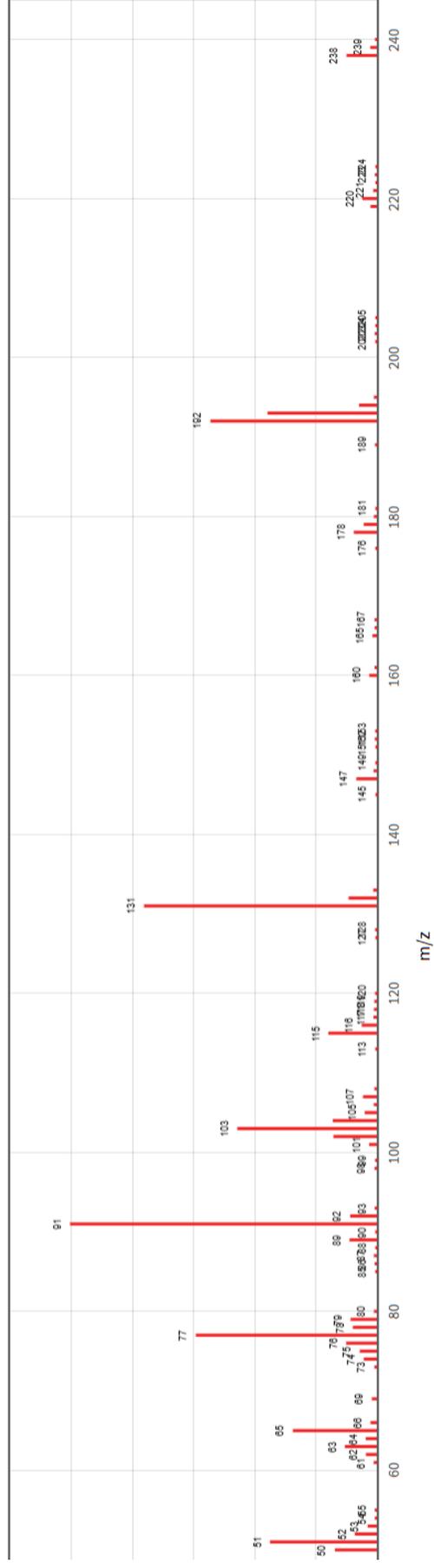
Möglicherweise 2 Isomere



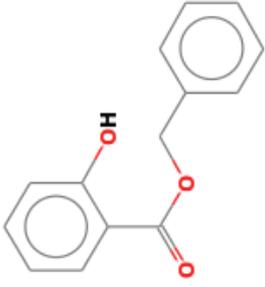
Strukturformel:

Benzyl cinnamate

Mass Spectrum



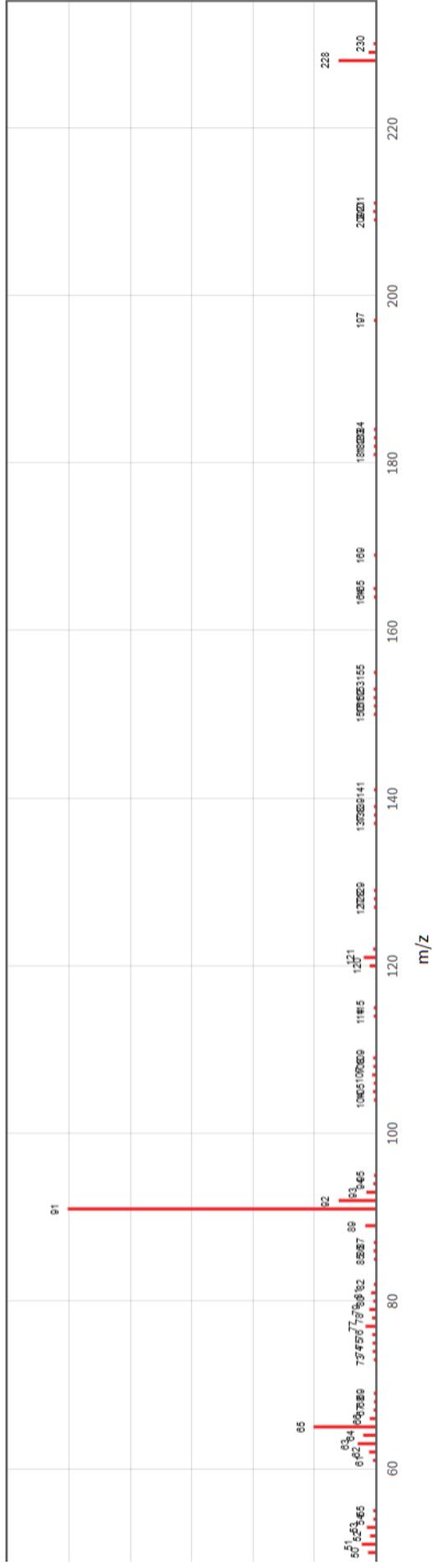
Benzylsalicylat [CAS 118-58-1], M 228,4



Strukturformel:

Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester

Mass Spectrum



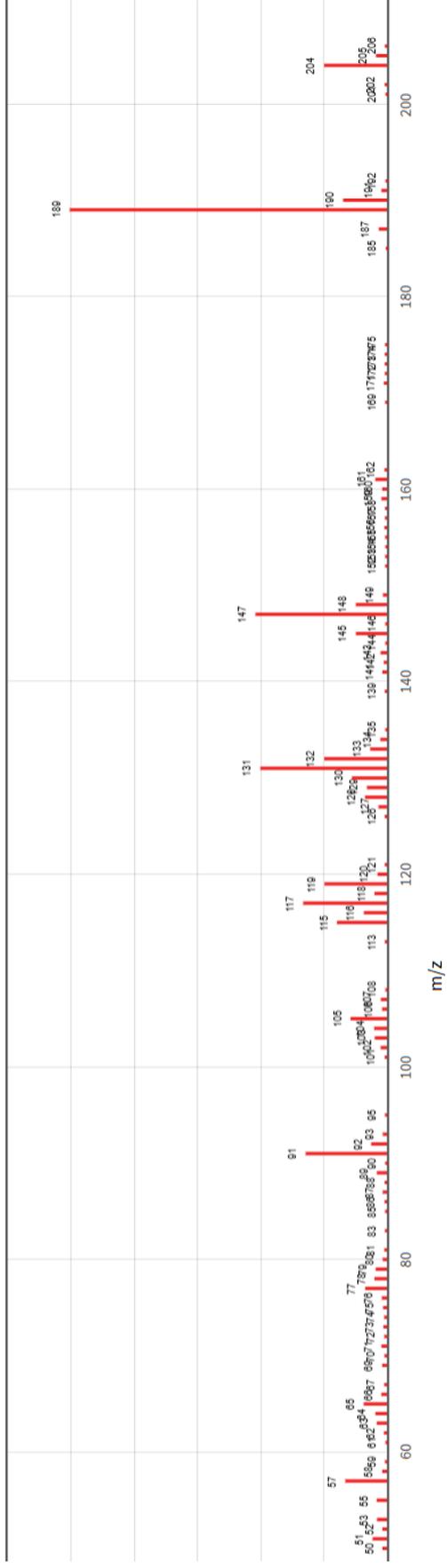
Lilial [CAS 80-54-6], M 204,3



Strukturformel:

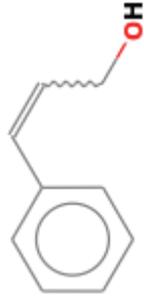
Lilial

Mass Spectrum



Zimtalkohol [CAS 104-54-1], M 134,2

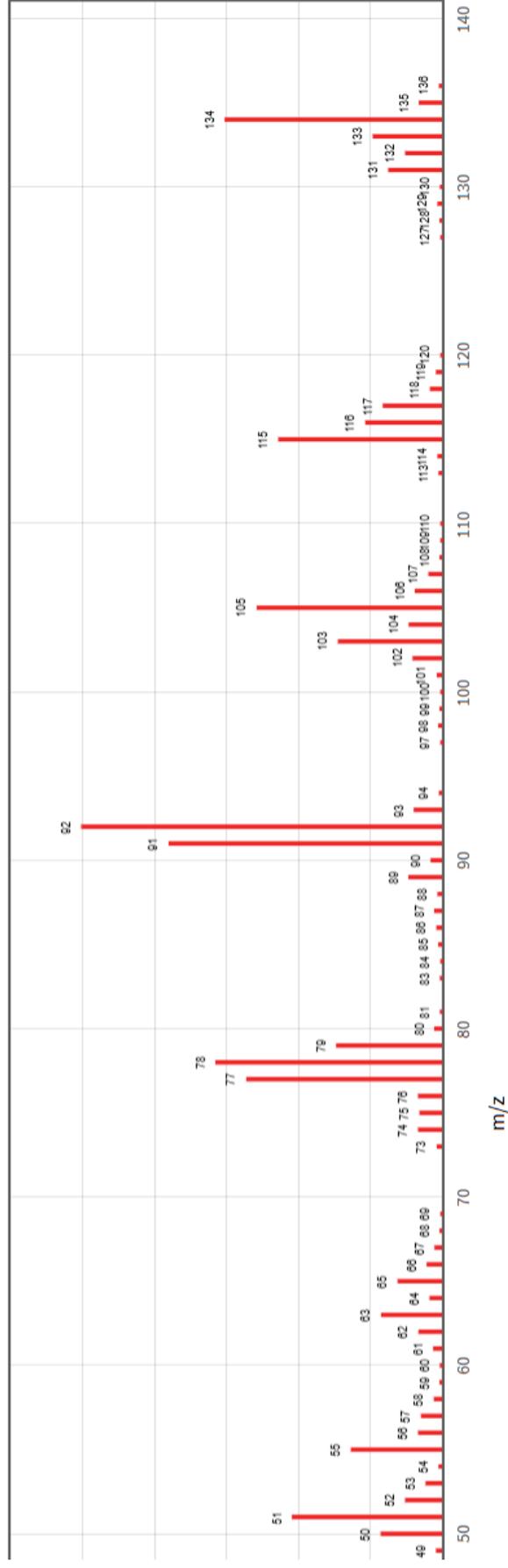
Möglicherweise 2 Isomere



Strukturformel:

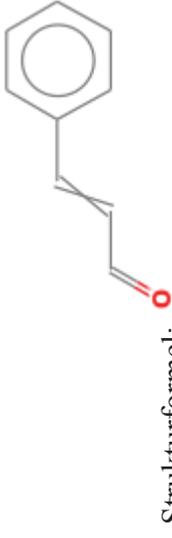
2-Propen-1-ol, 3-phenyl-

Mass Spectrum



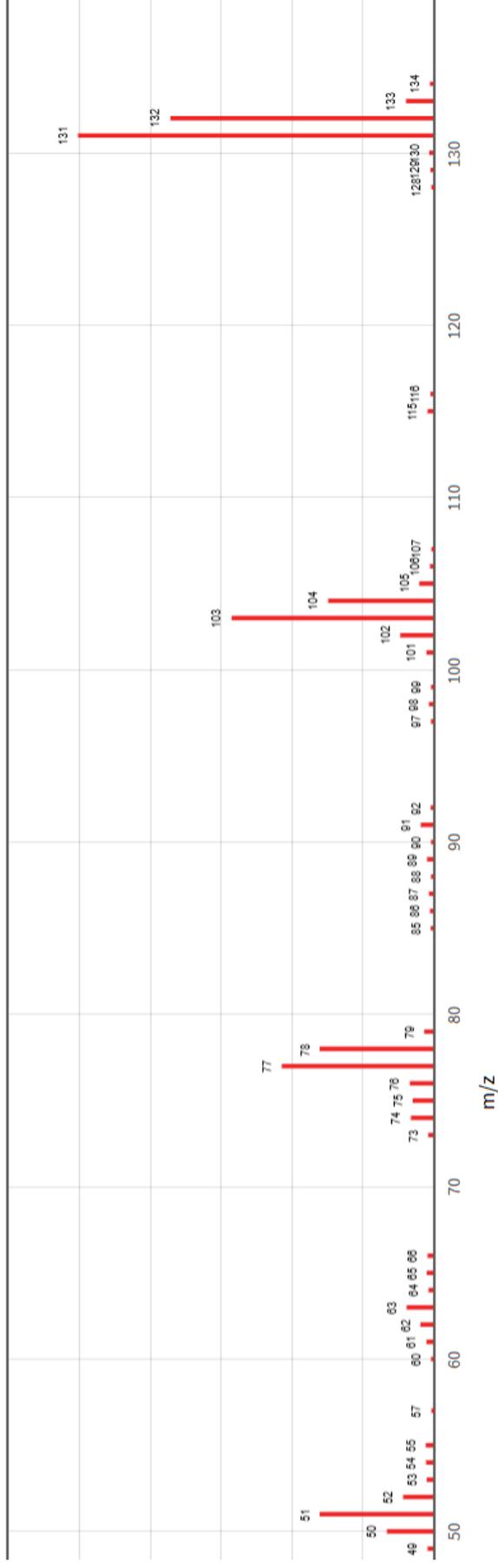
Zimtaldehyd [CAS 104-55-2], M 132,2

Möglicherweise 2 Isomere



2-Propenal, 3-phenyl-

Mass Spectrum



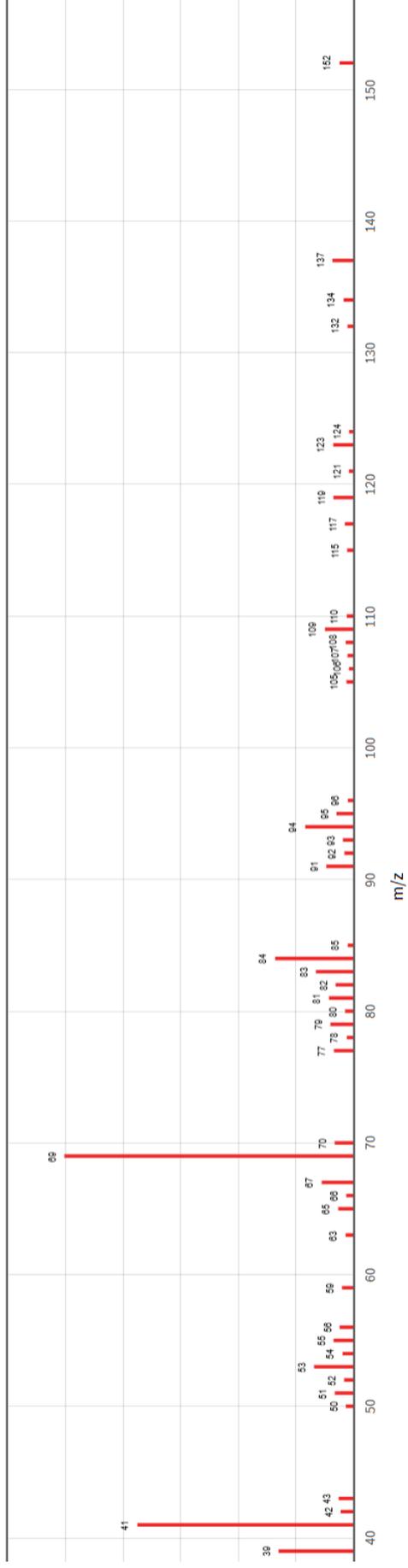
Citral [CAS 5392-40-5], M 152.2



Strukturformel:

Citral

Mass Spectrum



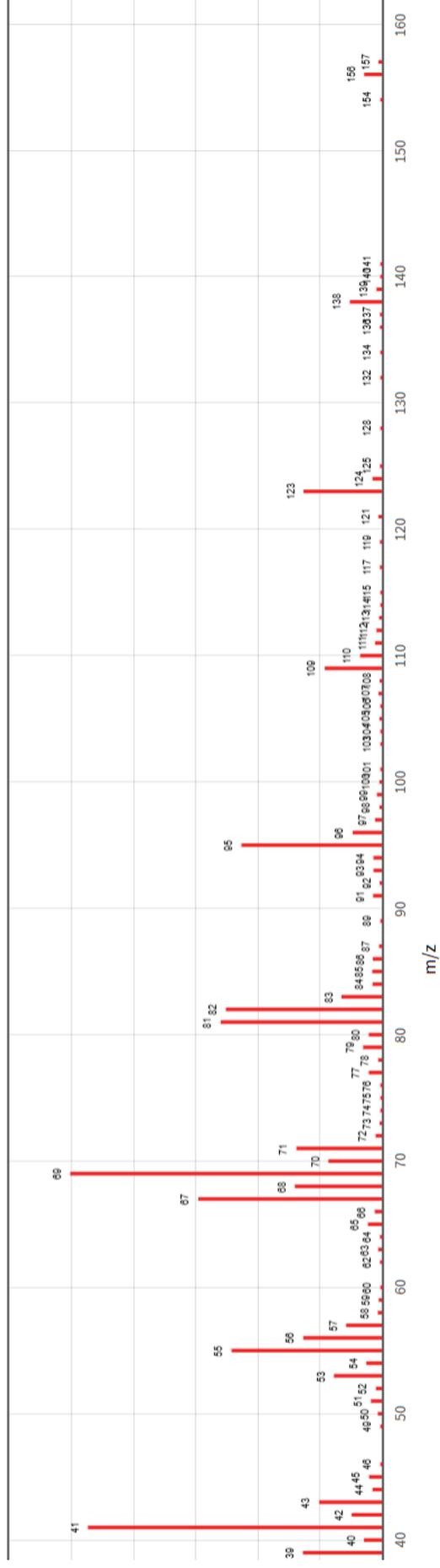
Citronellol [CAS 106-22-9], M 156,3



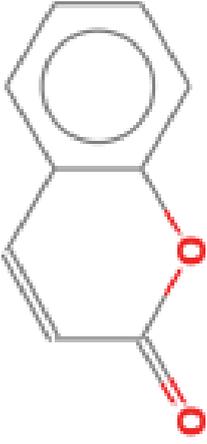
Strukturformel:

Citronellol

Mass Spectrum



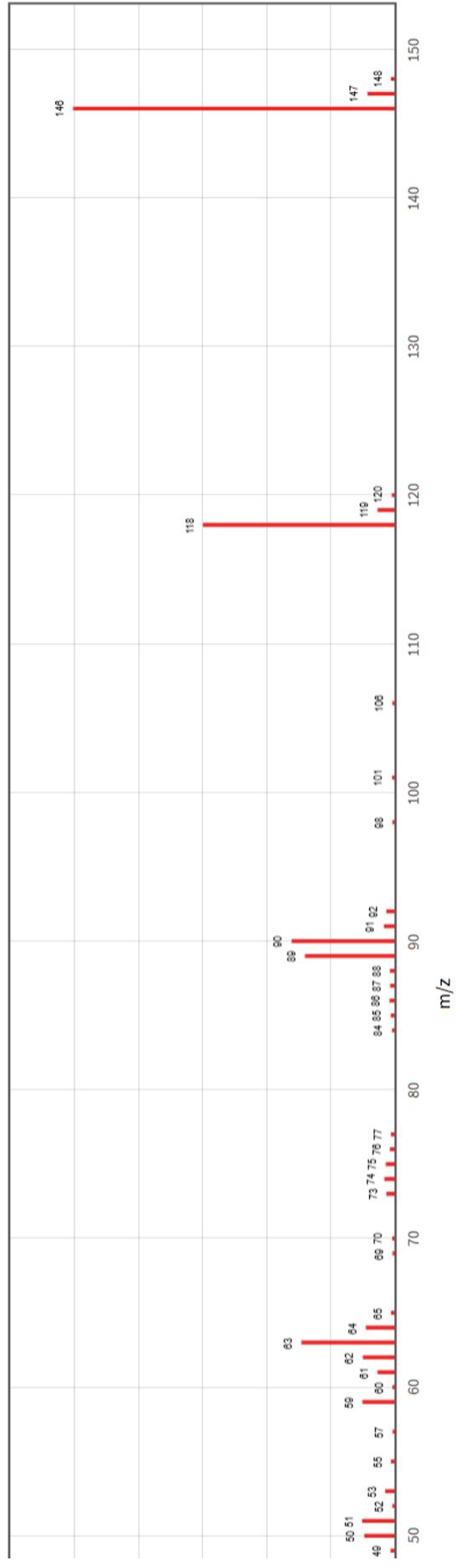
Coumarin [91-64-5] M 146.1

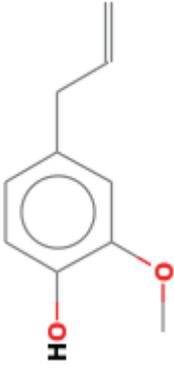


Strukturformel:

Coumarin

Mass Spectrum

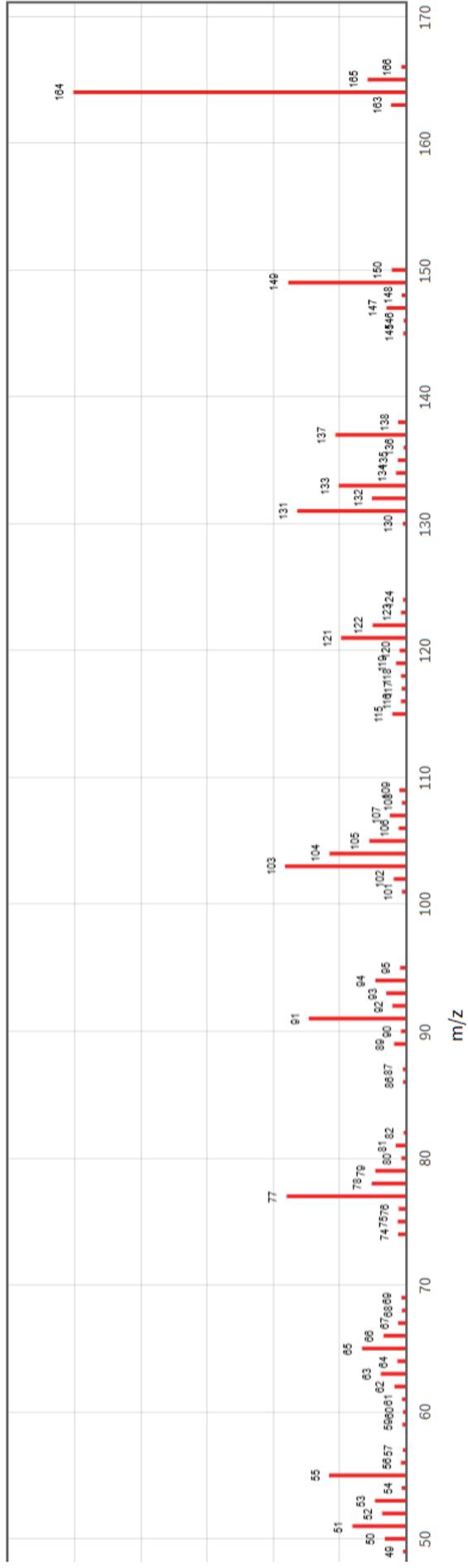


Eugenol [97-53-0] M 164,2

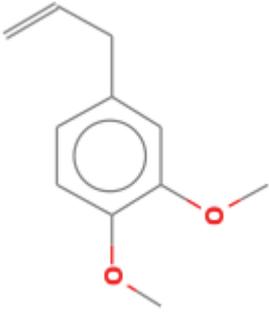
Strukturformel:

Eugenol

Mass Spectrum



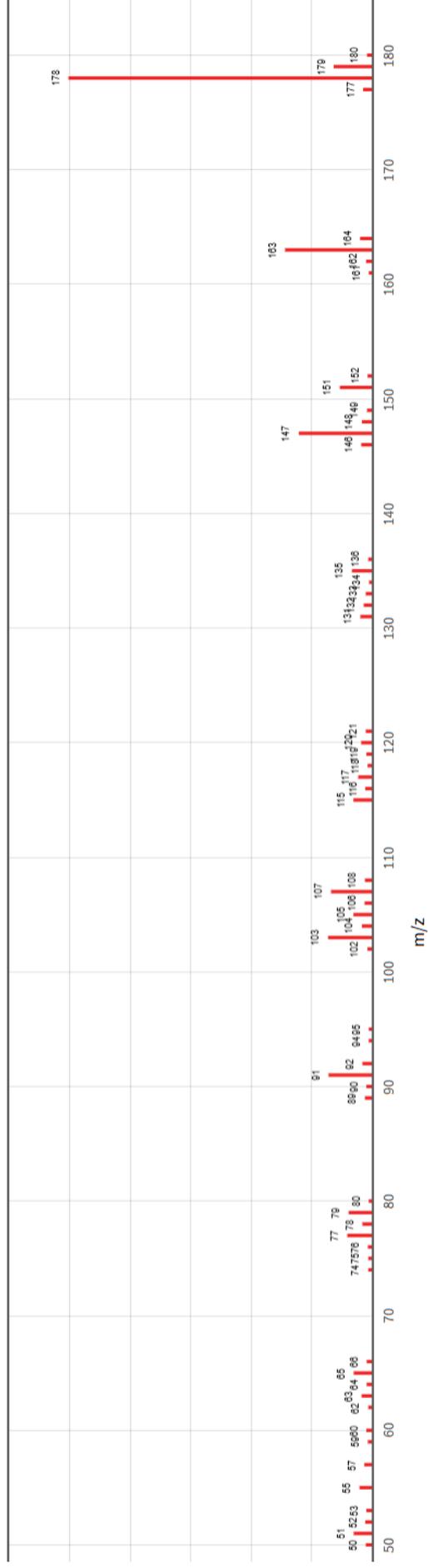
Methyleugenol [CAS 93-15-2] M 178.2



Strukturformel:

Methyleugenol

Mass Spectrum



Farnesol [4602-84-0] M 222.4

Möglicherweise 4 Isomere

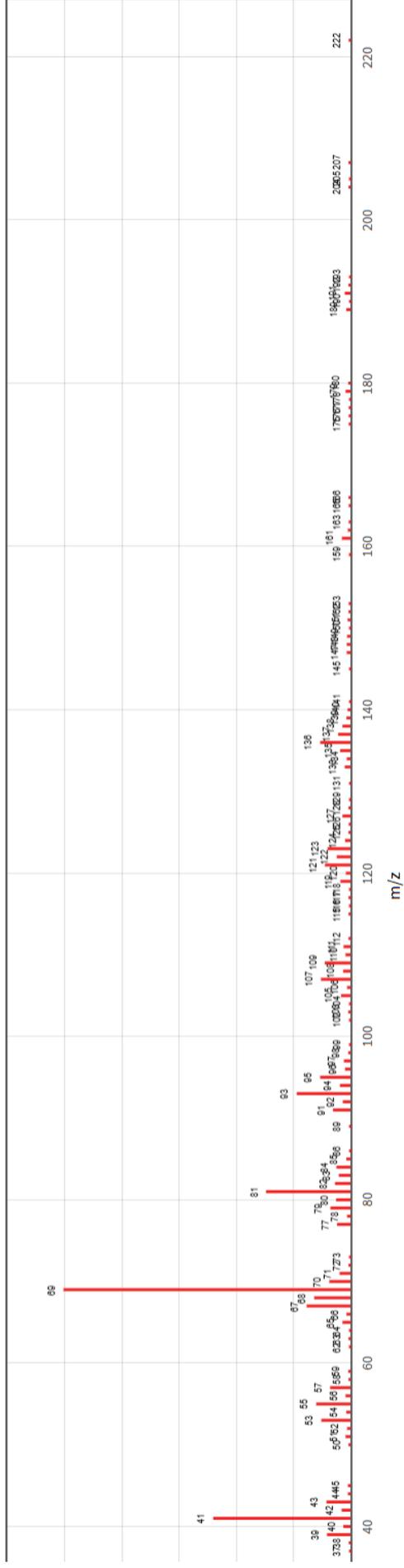


Strukturformel:



2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-

Mass Spectrum



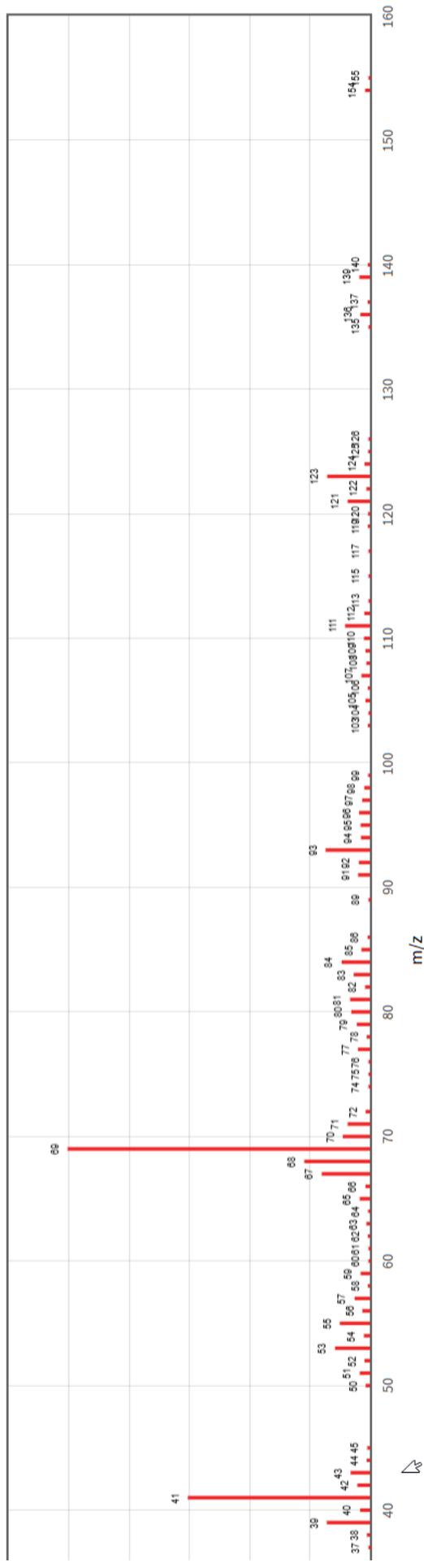
Geraniol [CAS 106-24-1] M 154.2



Strukturformel:

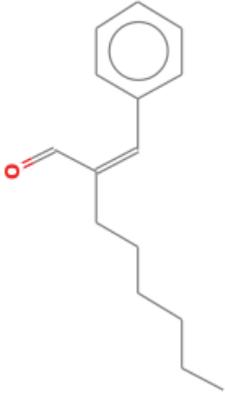
Geraniol

Mass Spectrum



Hexylzimtaldehyd [101-86-0] M 216.3

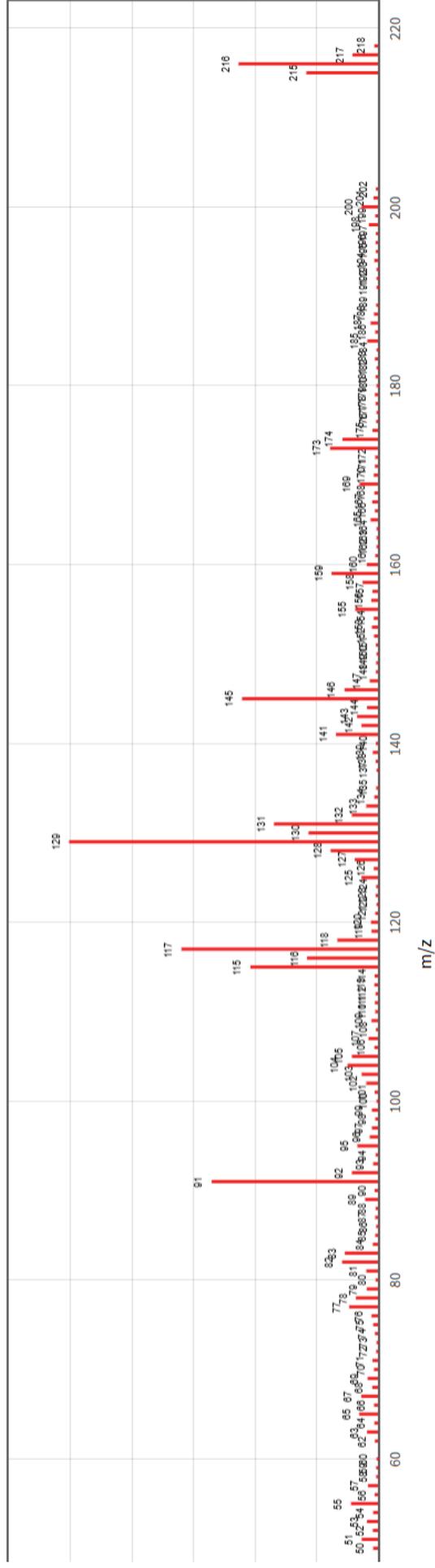
Mindestens 2 Isomere



Strukturformel:

Octanal, 2-(phenylmethylene)-

Mass Spectrum



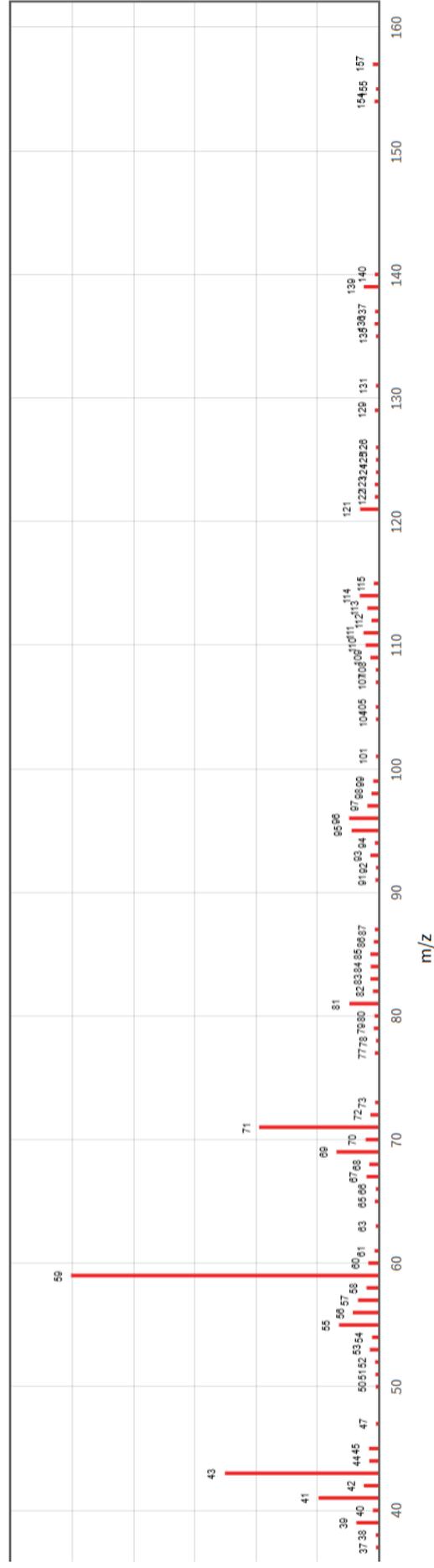
Hydroxycitronellal [107-75-5] M 172.3



Strukturformel:

Octanal, 7-hydroxy-3,7-dimethyl-

Mass Spectrum



Lyral [31906-04-4] M 210.3

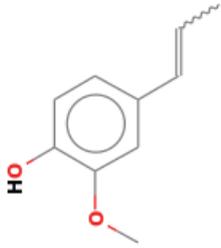
möglicherweise 2 Isomere



Strukturformel:

Isoeugenol [97-54-1] M 164,2

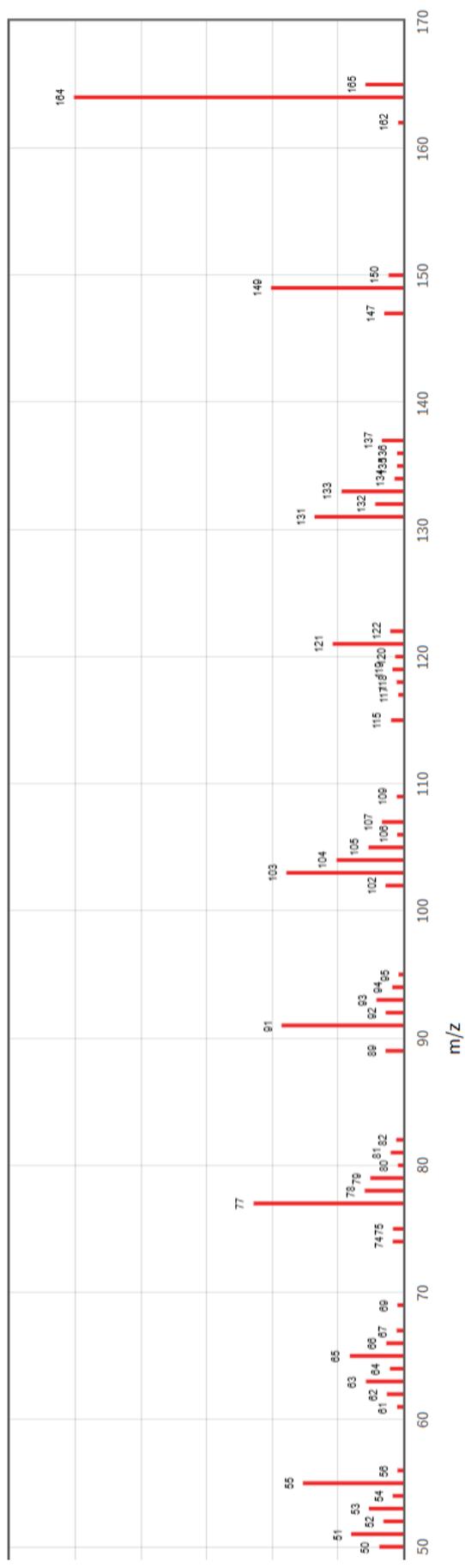
Möglicherweise 2 Isomere



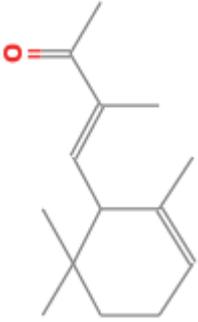
Strukturformel:

Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-

Mass Spectrum



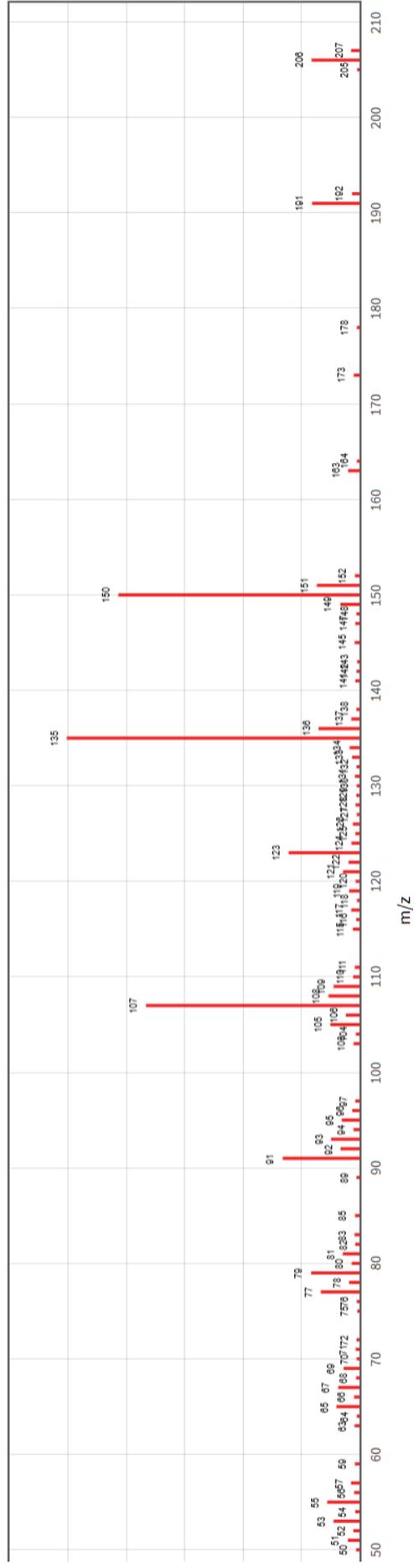
Alpha-Isomethyl-Ionon [127-51-5] M 206.3



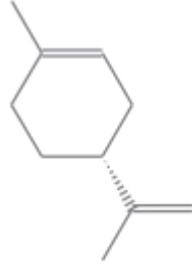
Strukturformel:

.alpha. Isomethyl ionone

Mass Spectrum



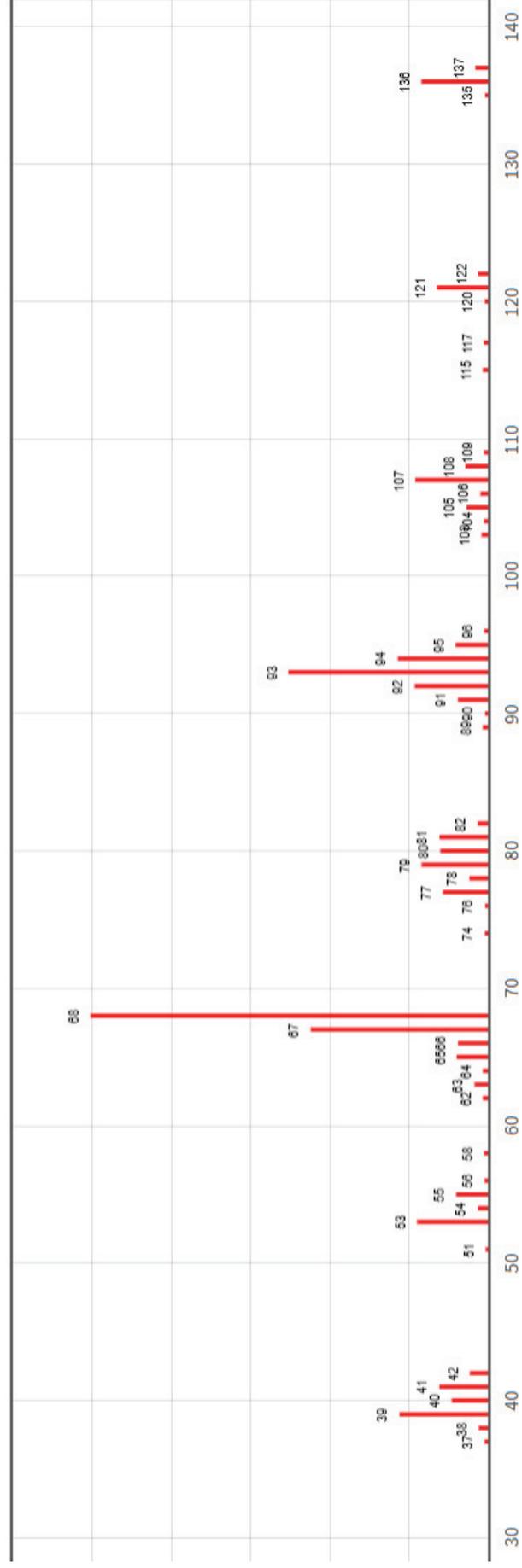
Limonen [CAS 138-86-3] M 136,2 Stereoisomers: D-Limonene [CAS 5989-27-5]

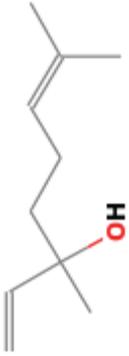


Strukturformel:

Limonene

Mass Spectrum

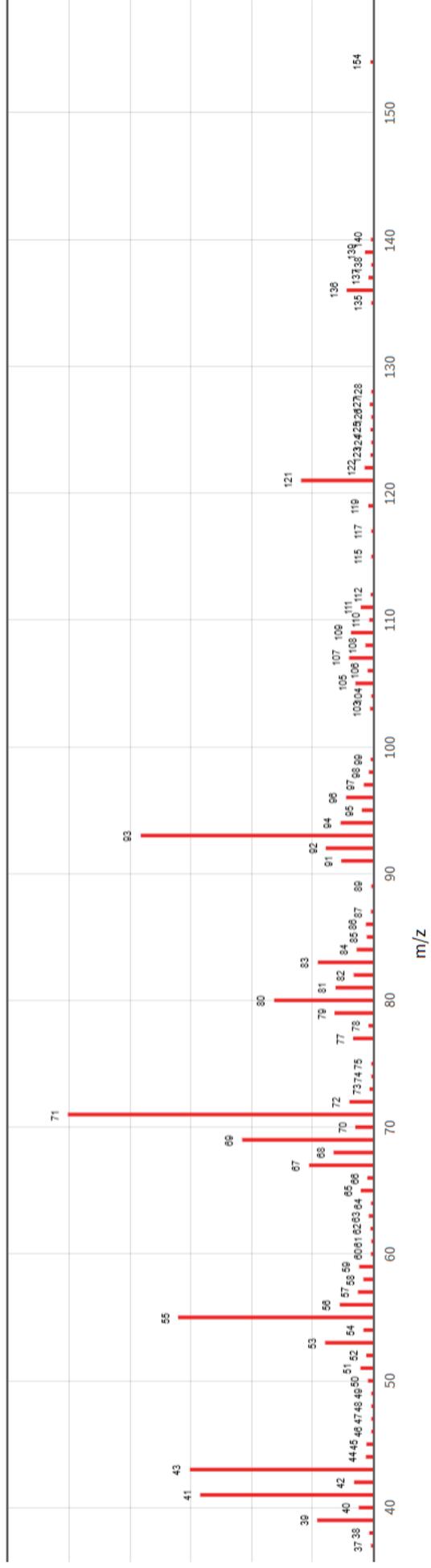


Linalool [CAS 78-70-6] M 154,2

Strukturformel:

Linalool

Mass Spectrum



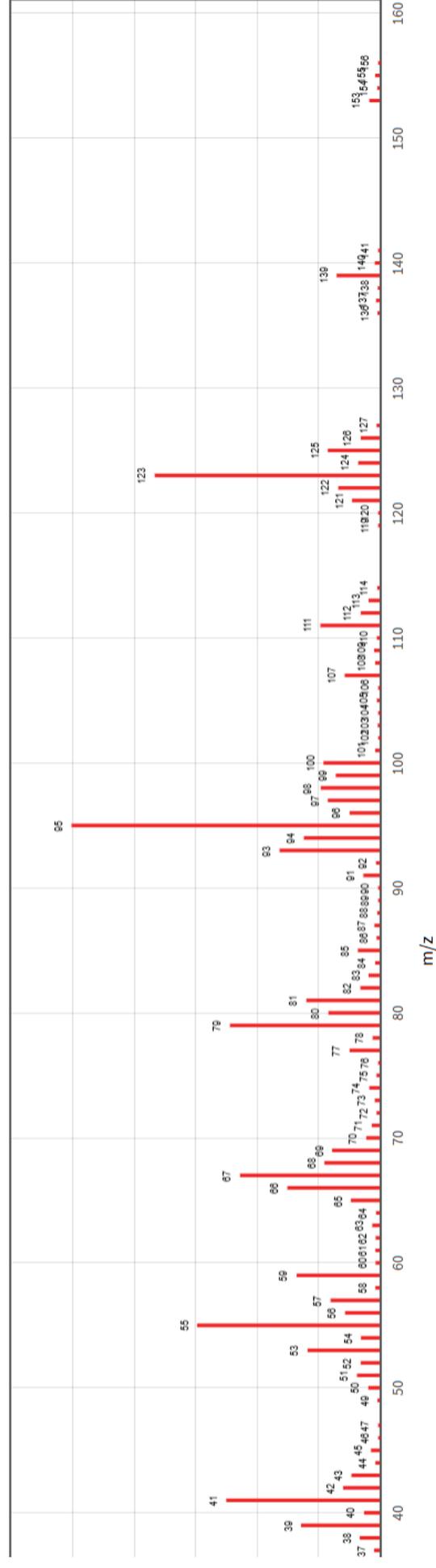
Methylheptincarboxonat / Folione [CAS 111-12-6] M 154,2



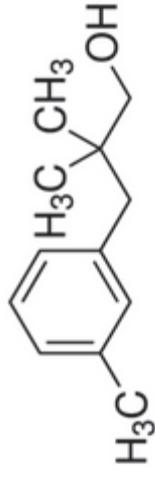
Strukturformel: _____

2-Octynoic acid, methyl ester

Mass Spectrum

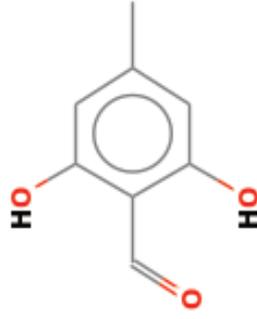


Majantol [CAS 103694-68-4] M 178,3



Strukturformel:

Atranol [526-37-4], M 152,15

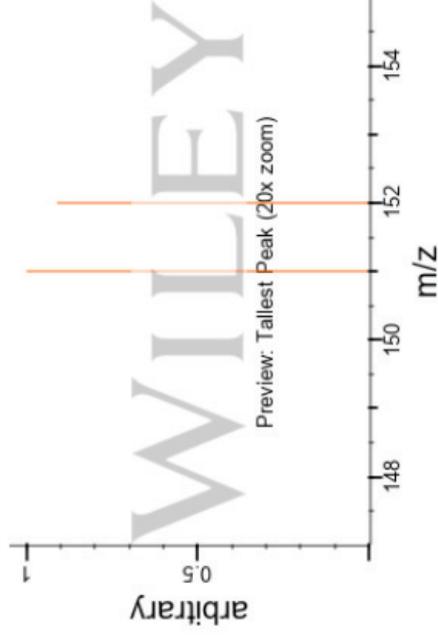


Strukturformel:

4.1 Mass Spectrometry

Source of Spectrum X2-49-1160-0

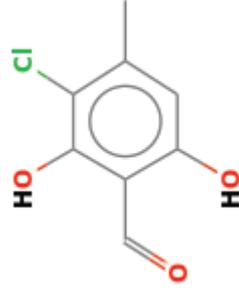
Copyright © 2020 John Wiley & Sons, Inc. All Rights Reserved.



Thumbnail

© 2020 John Wiley & Sons, Inc. All Rights Reserved.

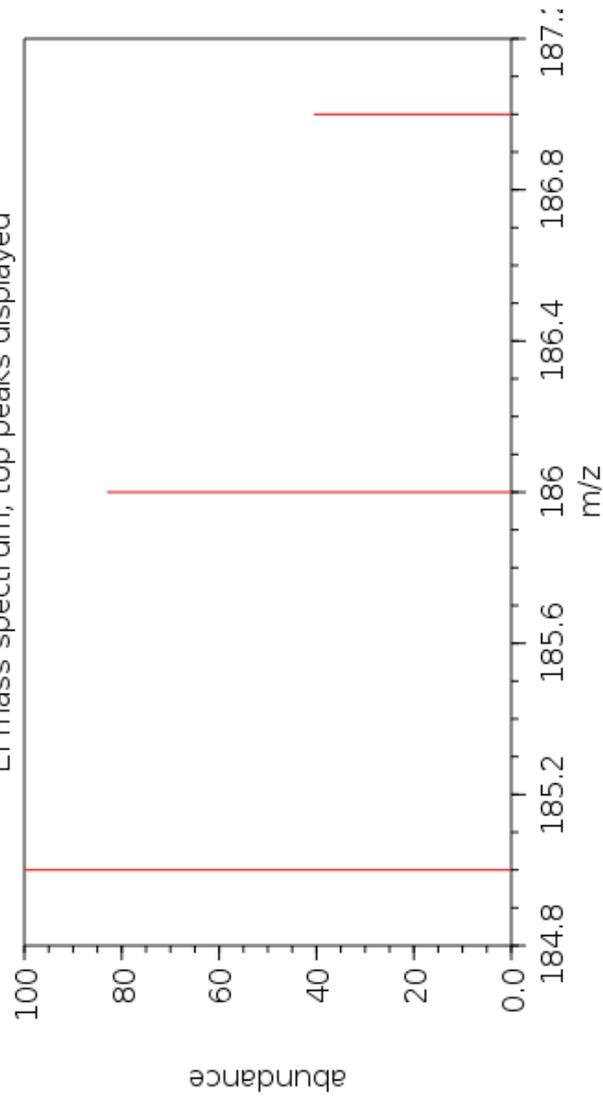
Chloratranol [57074-21-2], M 186.6



Strukturformel:

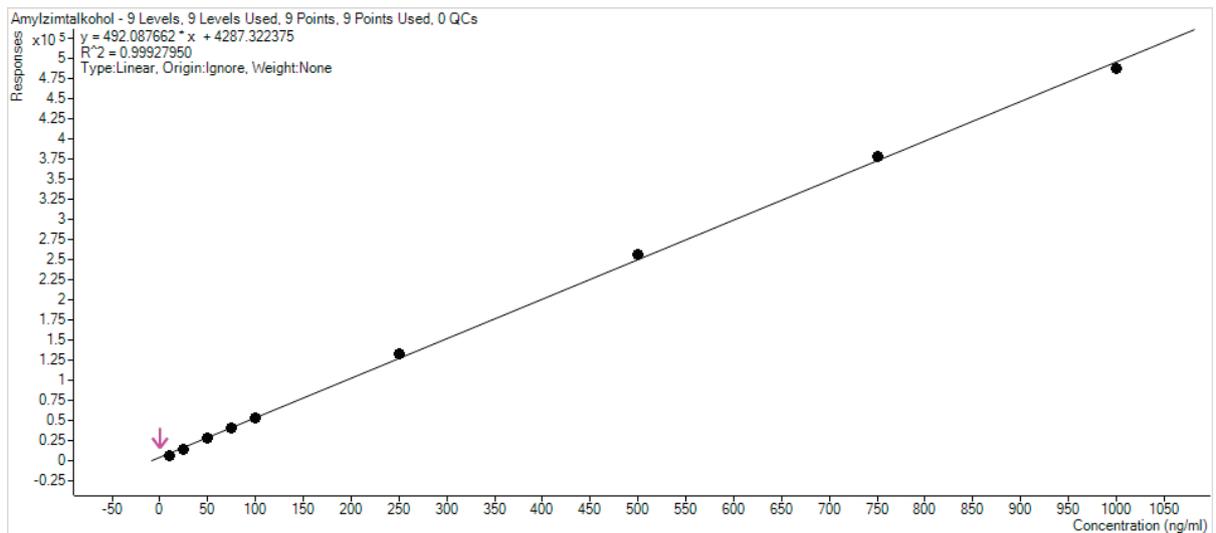
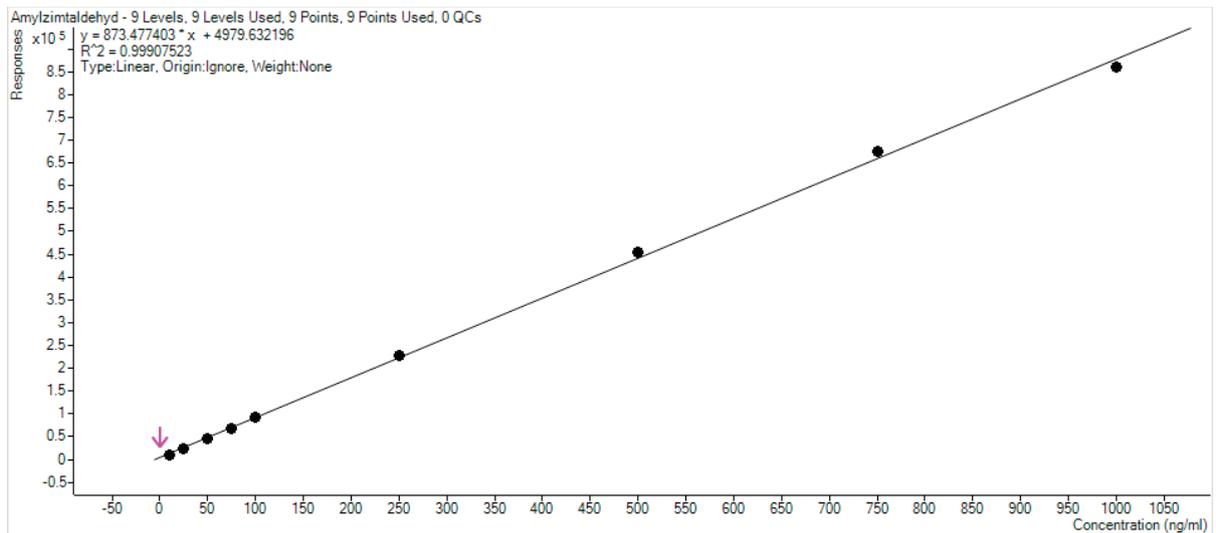
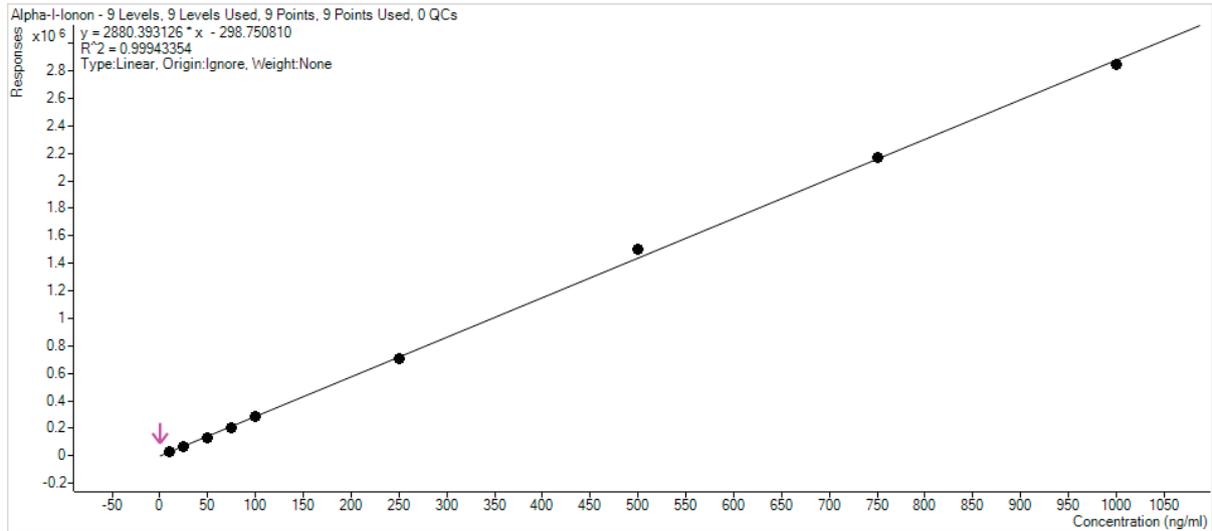
3-Chloro-2,6-dihydroxy-4-methylbenzaldehyde

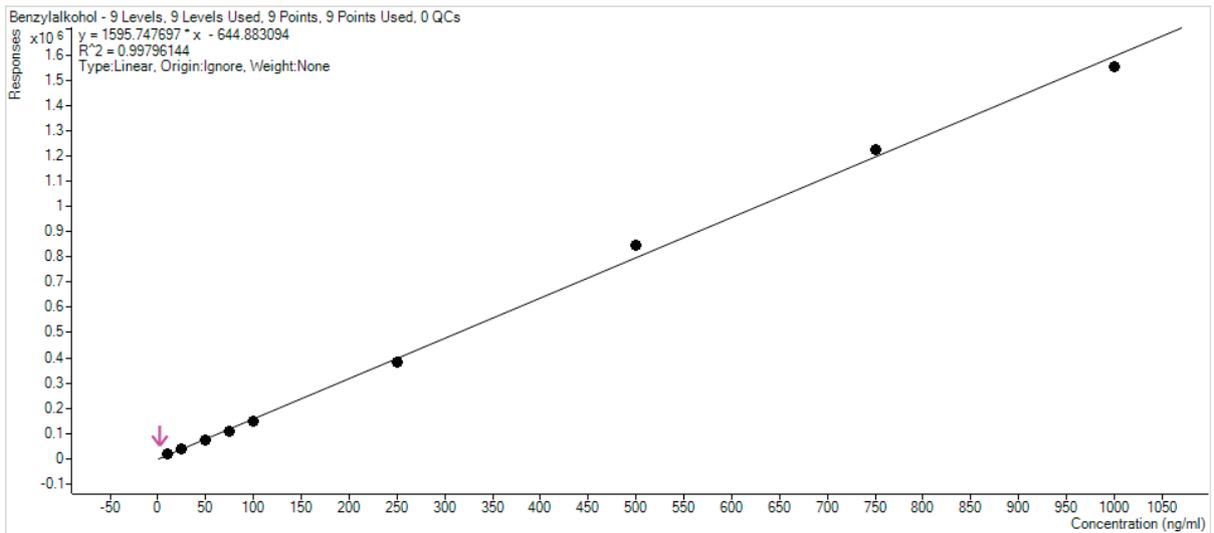
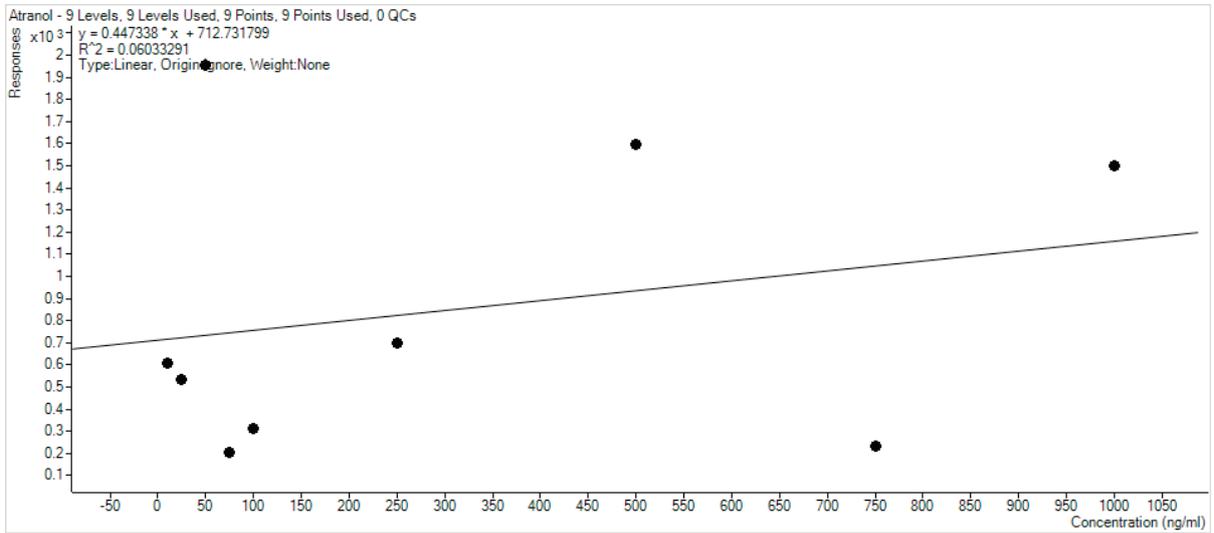
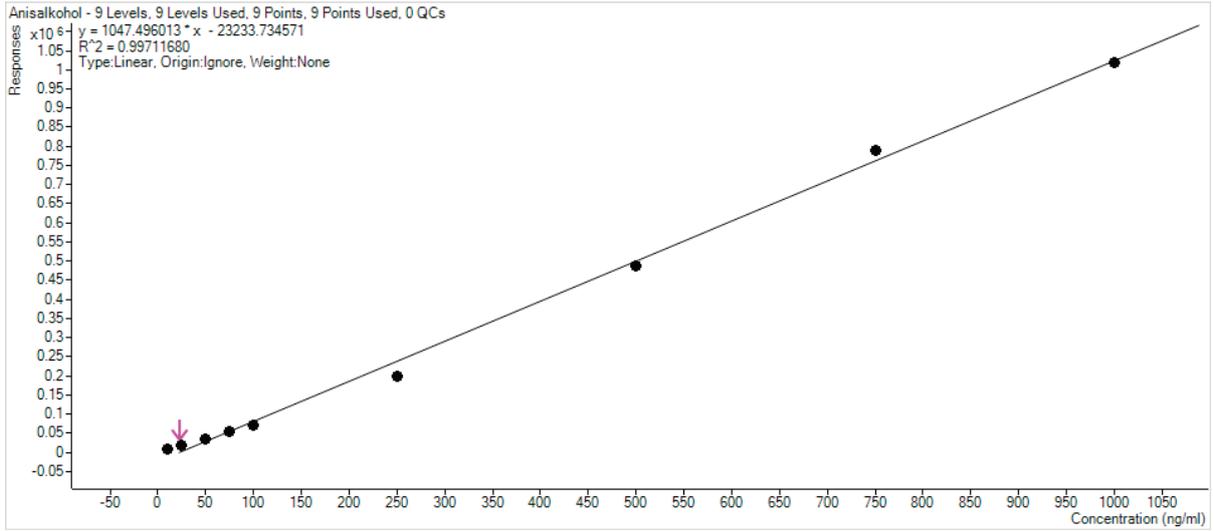
El mass spectrum, top peaks displayed

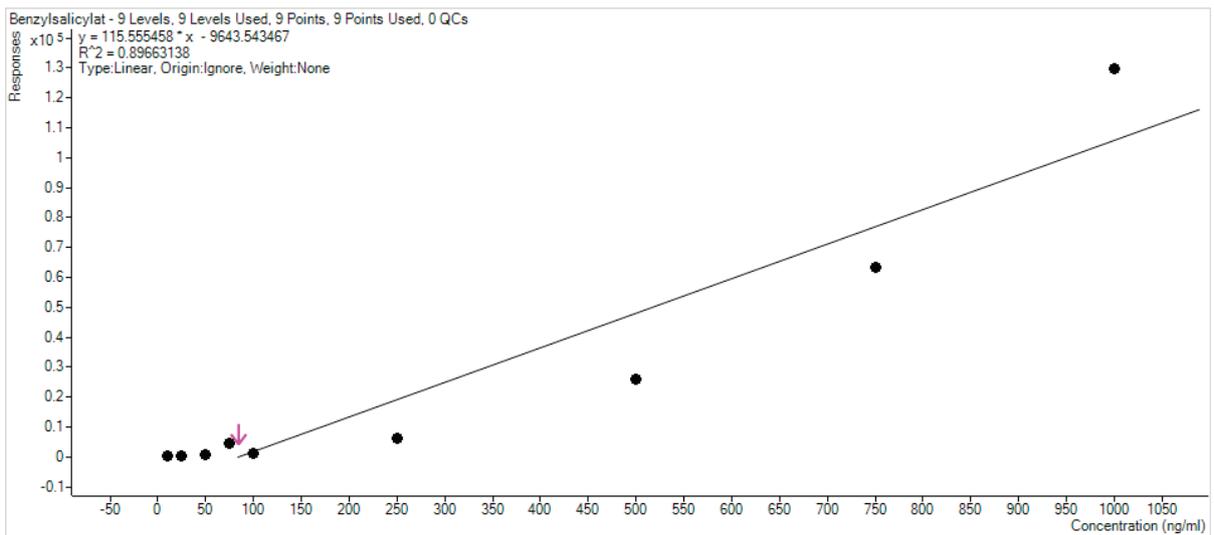
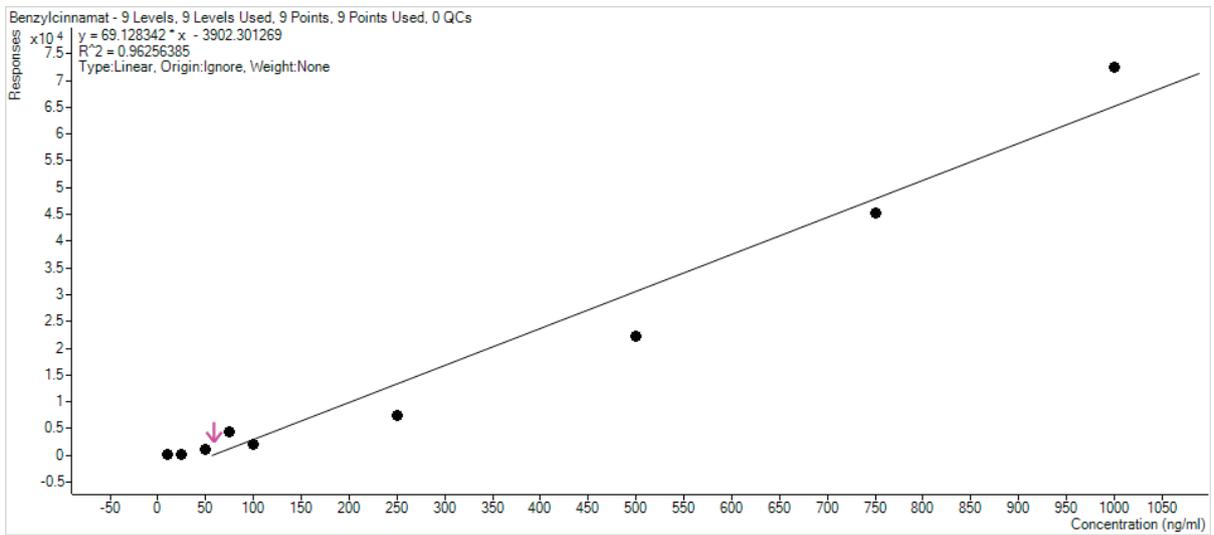
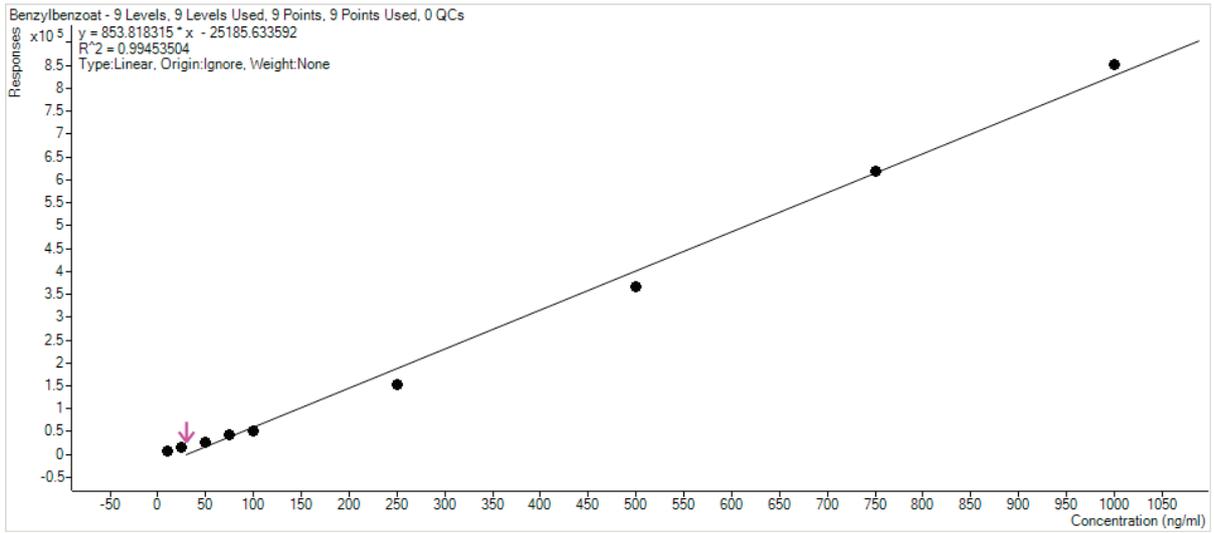


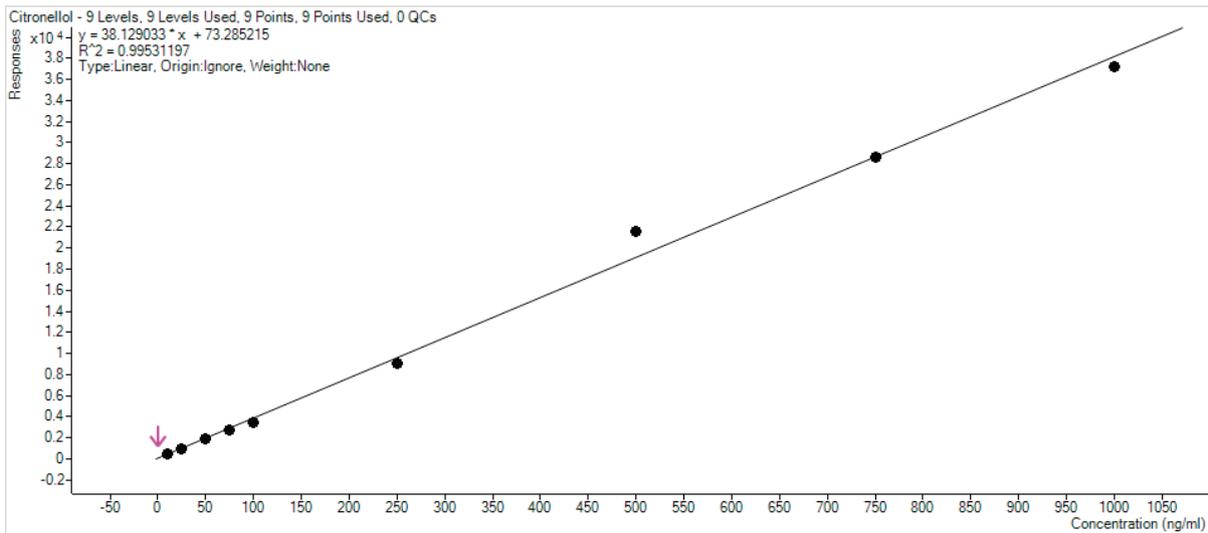
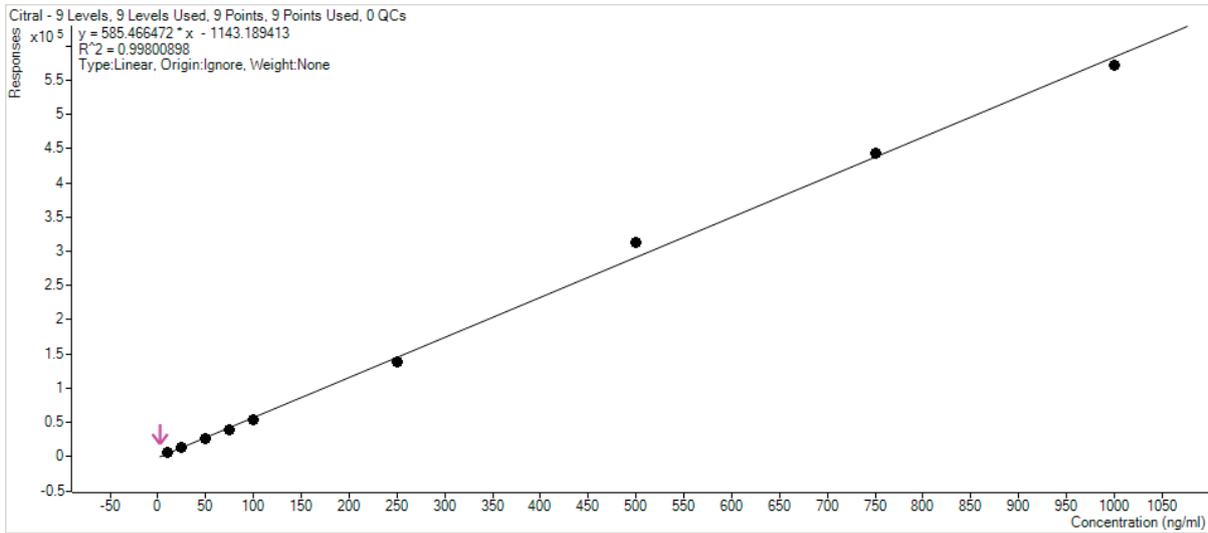
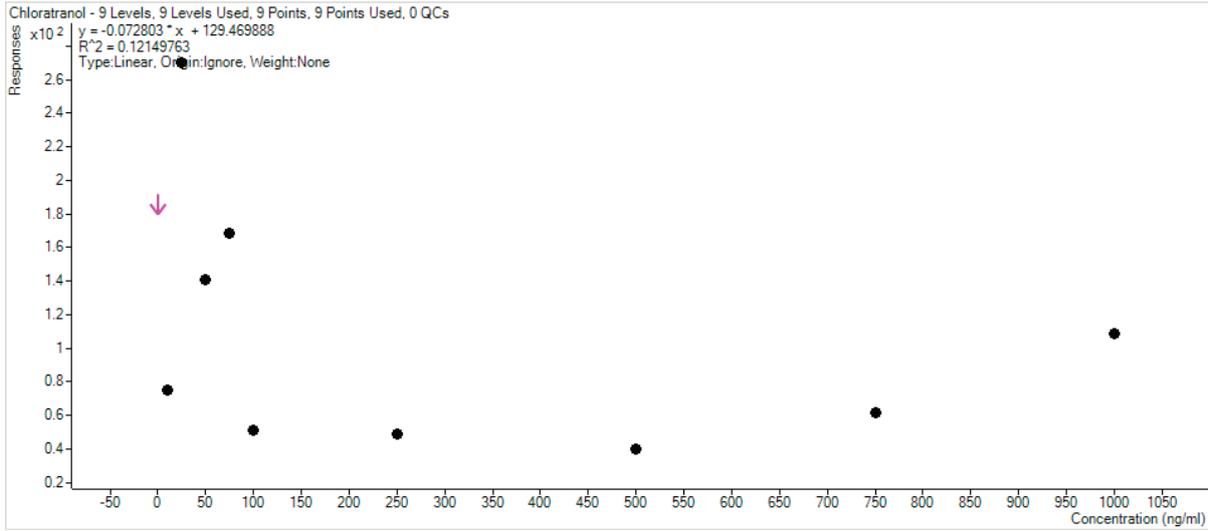
© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

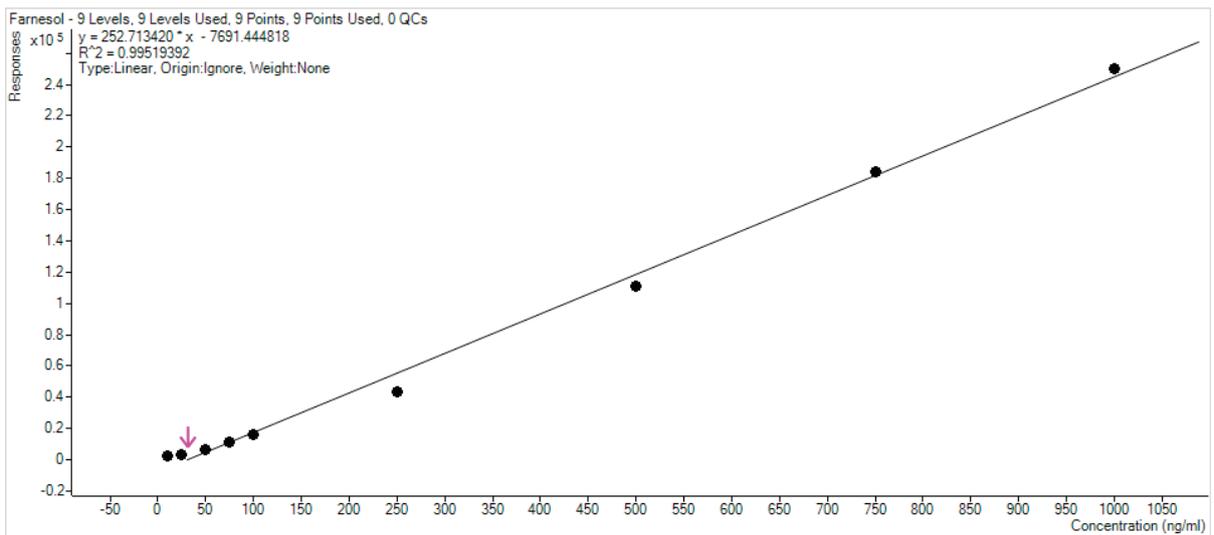
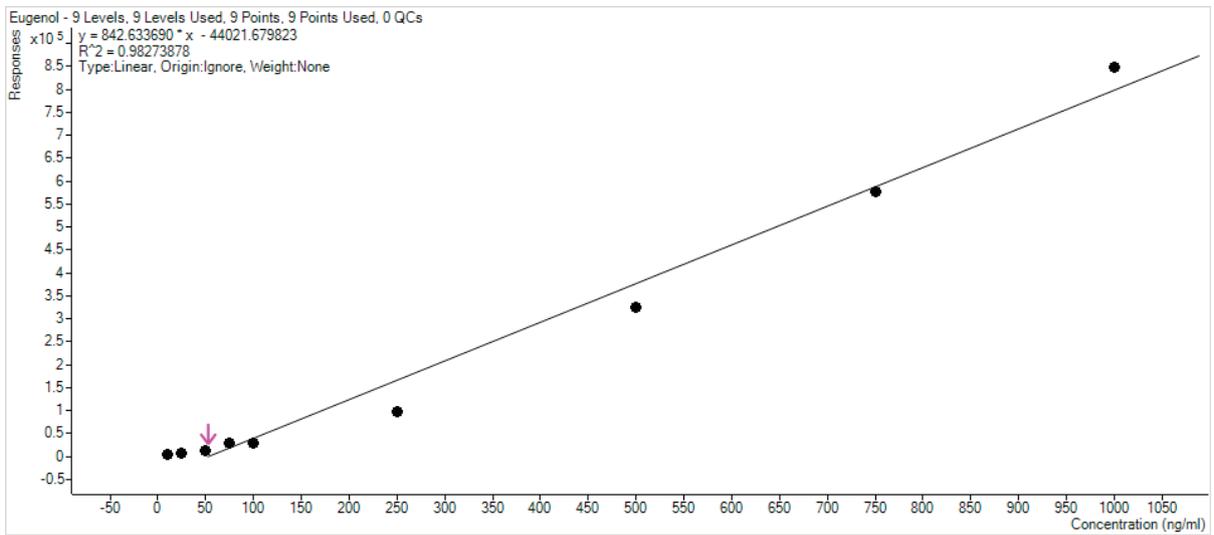
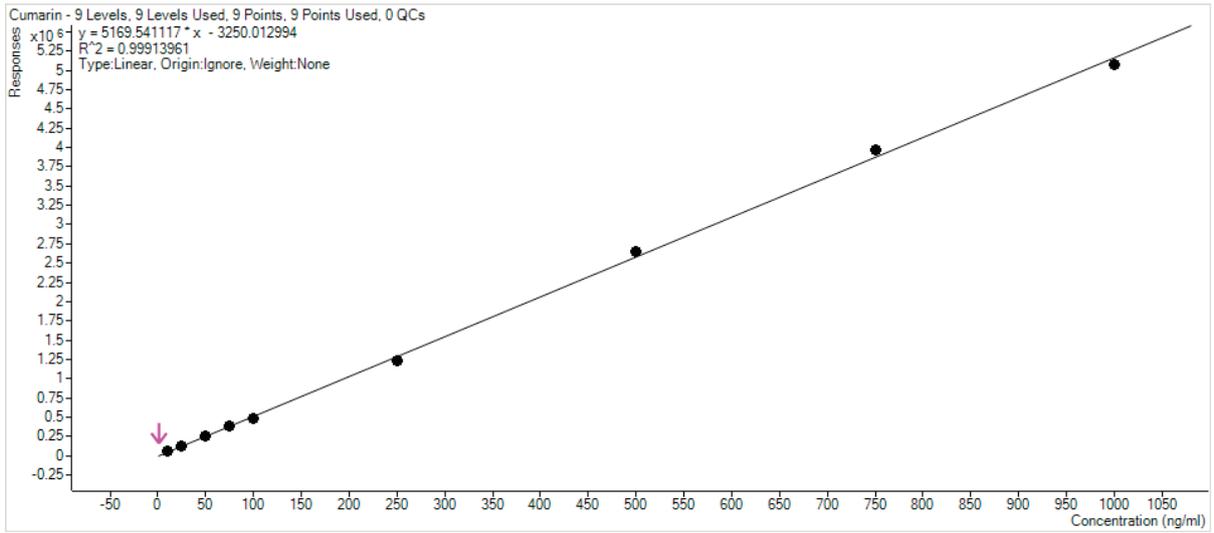
Anlage 6: Darstellung der Kalibrationsgeraden der 28 Duftstoffe, inklusive Ausreißer

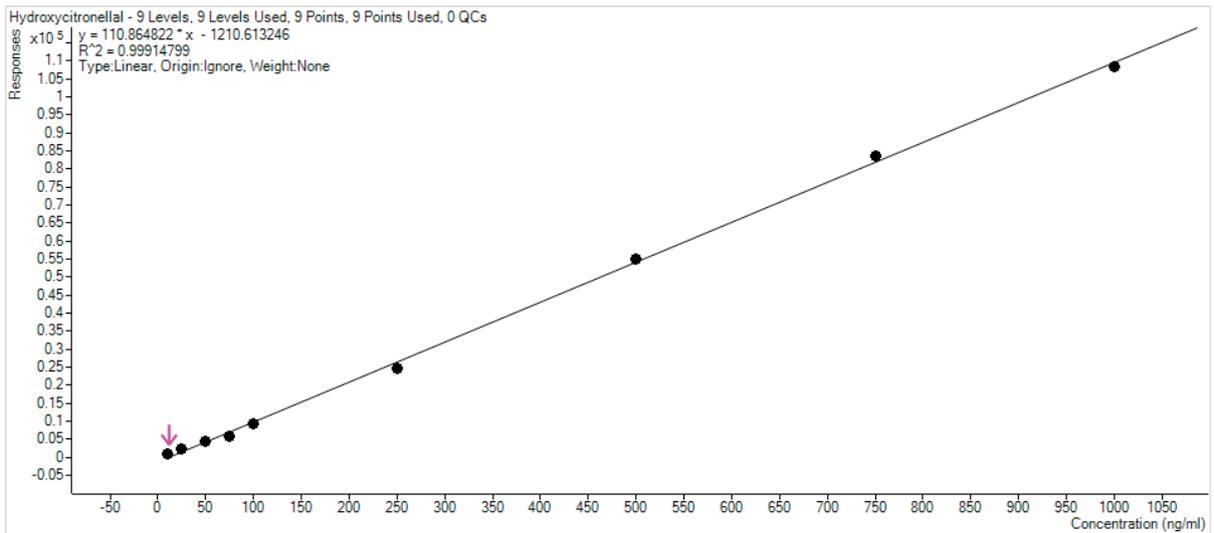
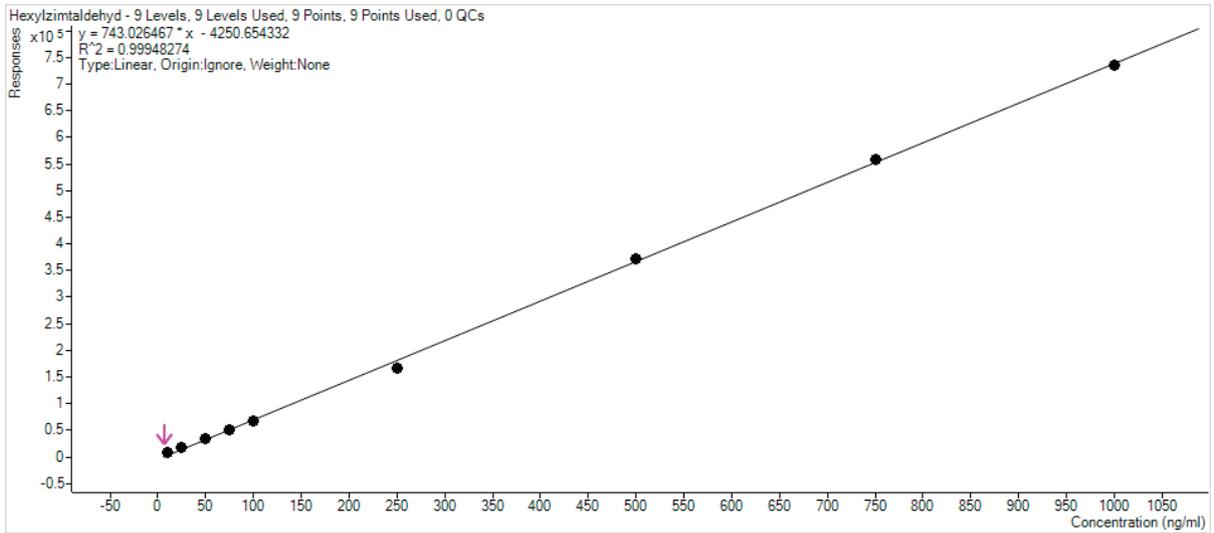
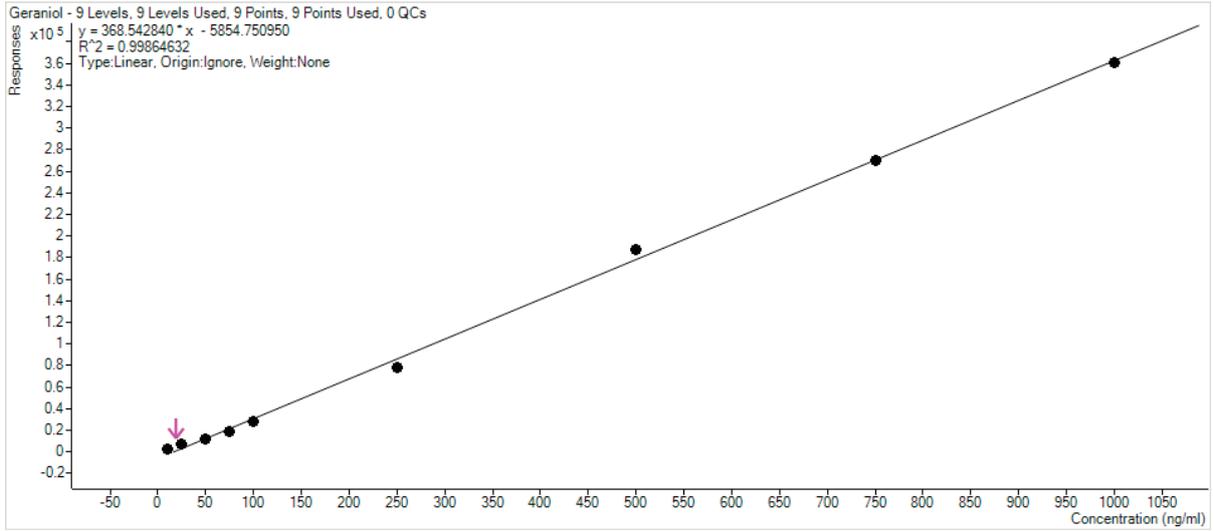


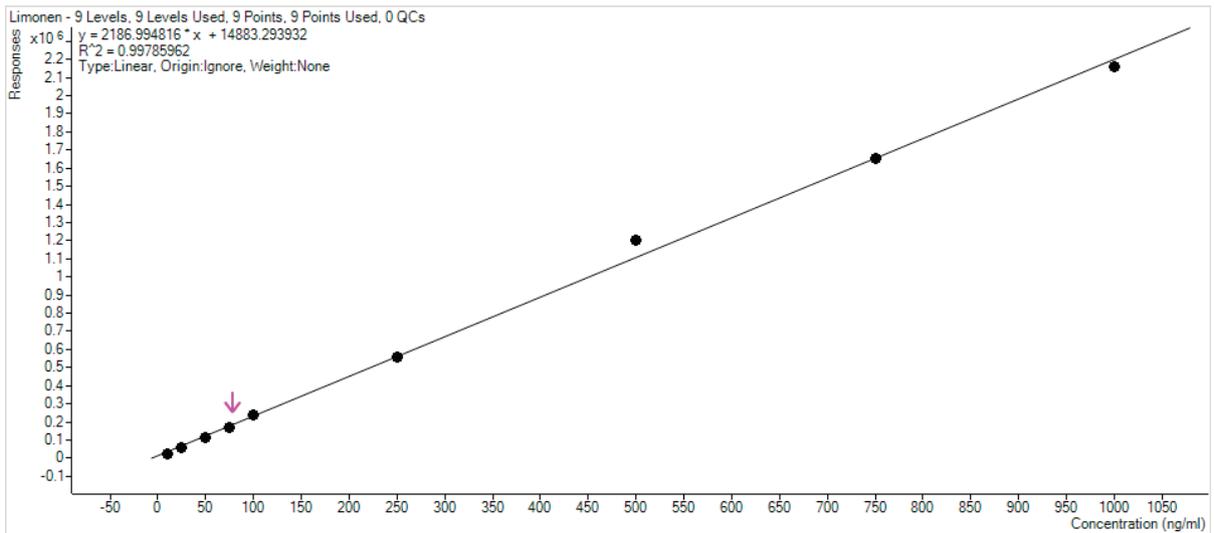
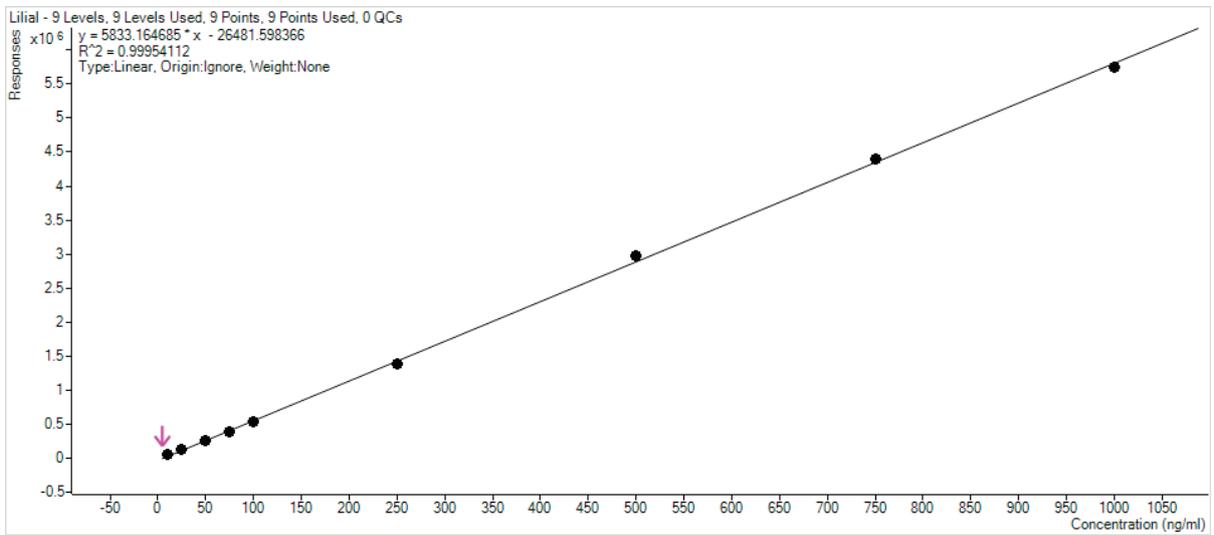
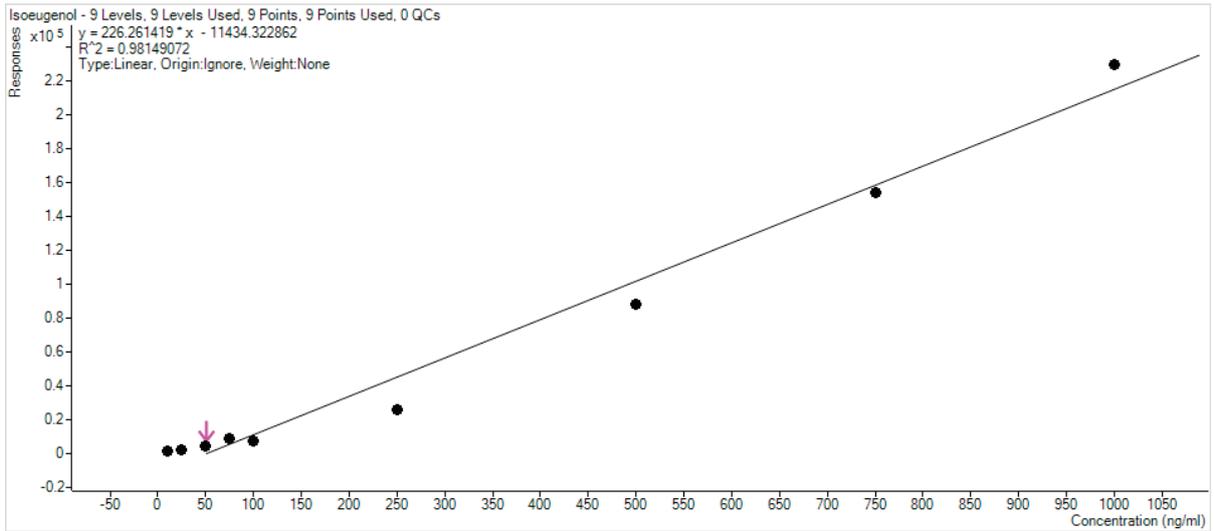


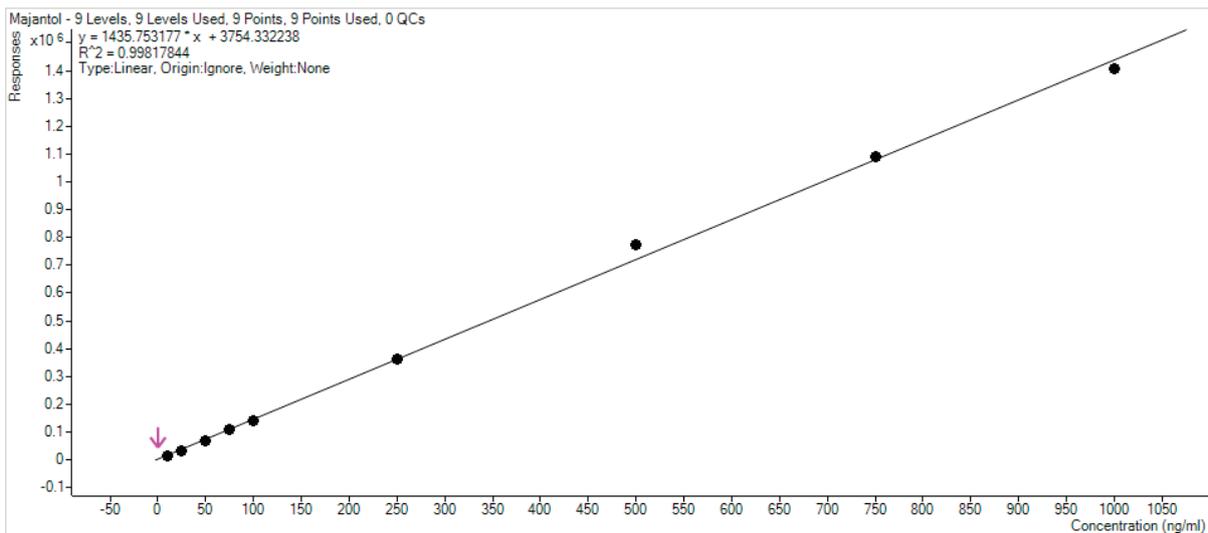
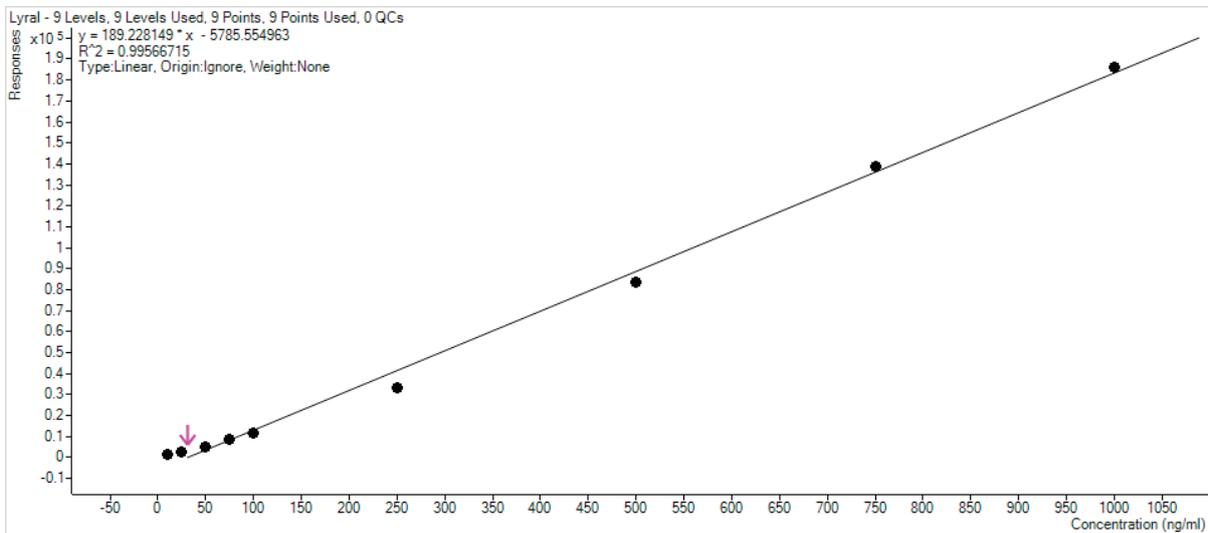
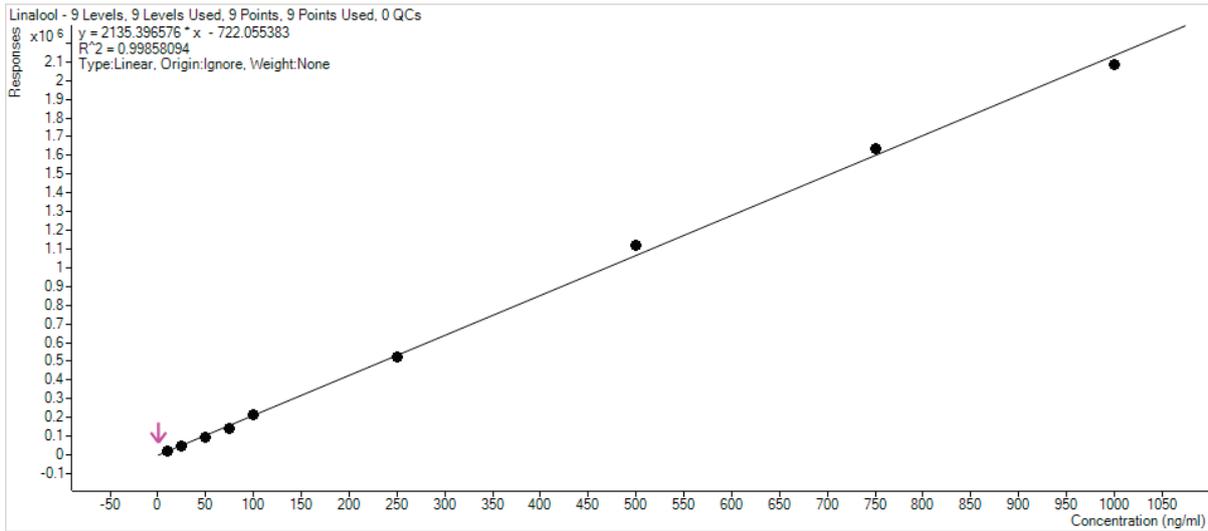


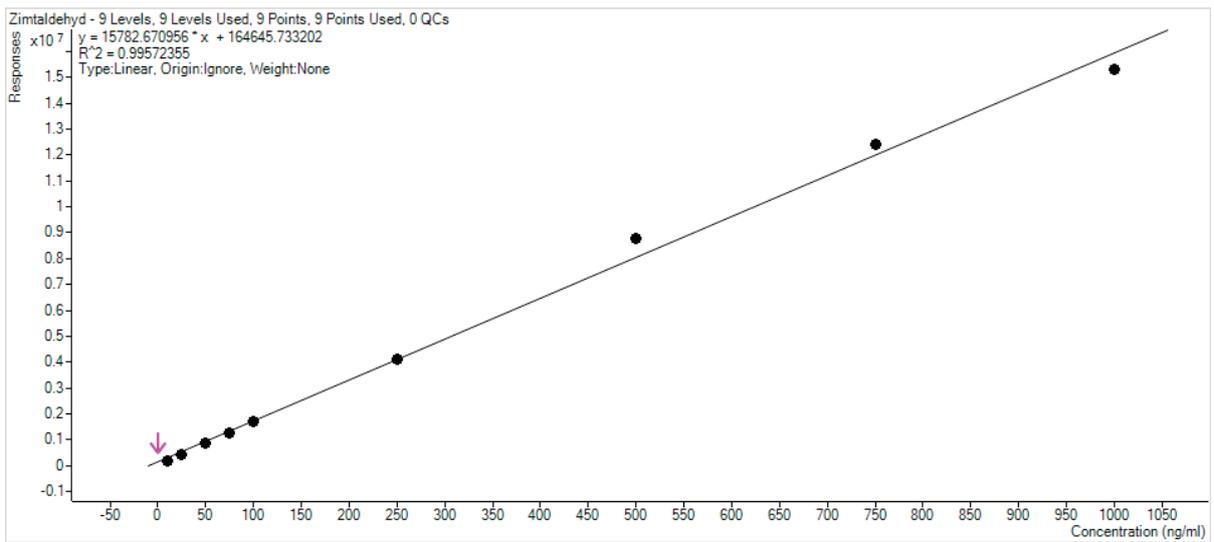
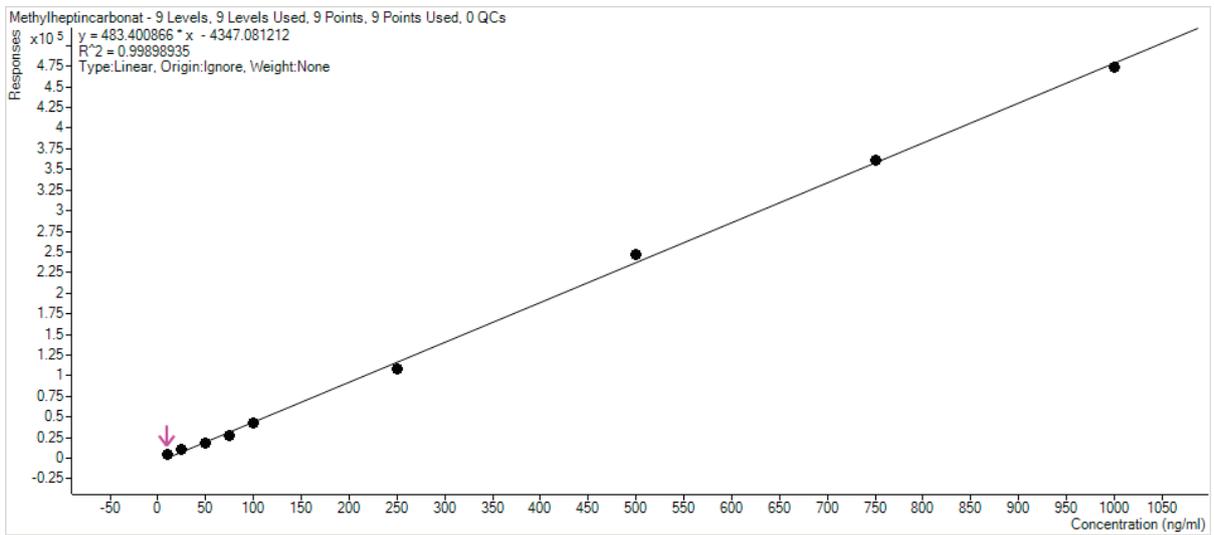
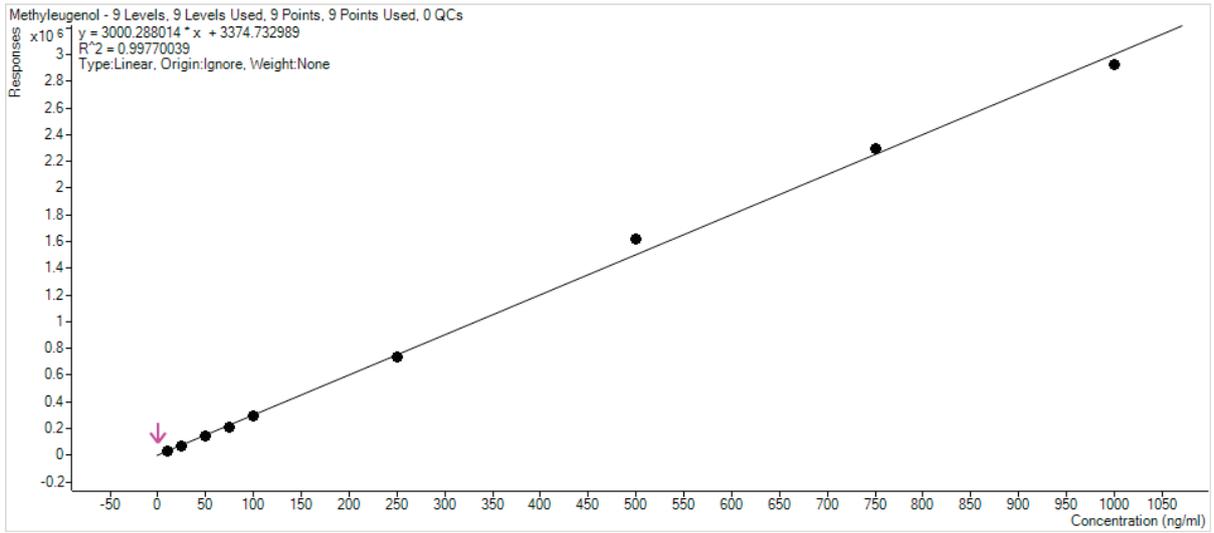


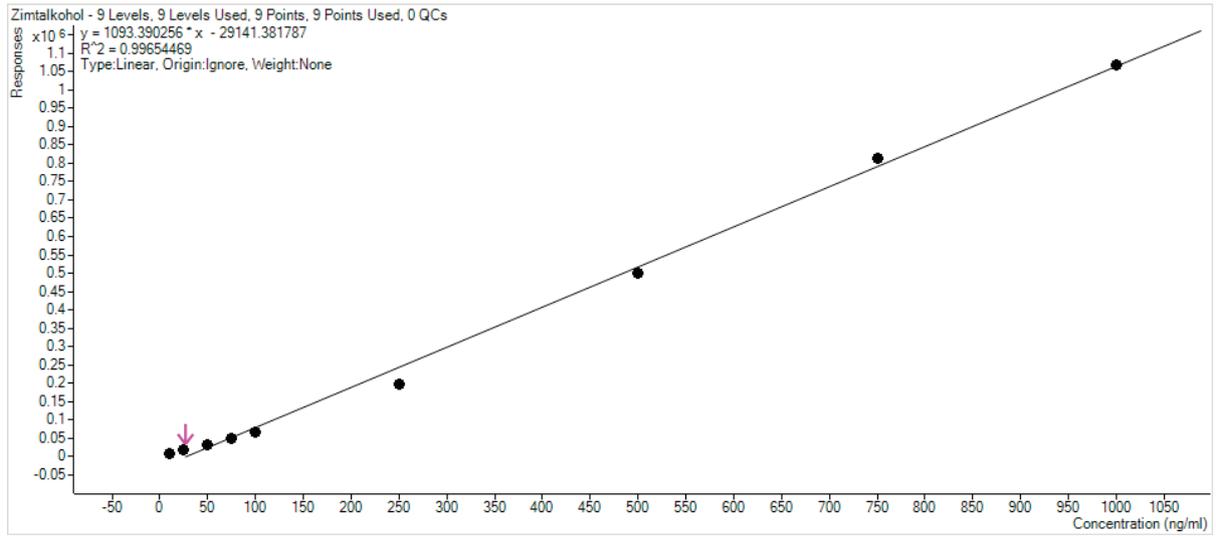












Anlage 8: Einzelwerte zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Geräteperformance

Duftstoff	Wert 1	Wert 2	Wert 3	Wert 4	Wert 5	Wert 6	Wert 7
Limonen	220270,36	217186,52	213241,79	217200,81	217123,31	219743,65	227422,27
Linalool	210441,31	211441,09	210812,88	213162,50	210131,16	205160,80	212905,10
Methylheptin- carbonat	73370,43	73984,73	74674,10	73498,94	74039,55	72128,19	73140,39
Citral	70790,43	71006,64	71469,08	73194,85	73719,68	71703,23	78283,09
Citronellol	5278,44	6162,40	5938,03	5602,76	6443,03	6424,62682 5	5418,40
Geraniol	51024,66	50558,37	49191,22	49138,23	50210,32	48147,57	49853,30
Benzylalkohol	98906,23	100865,53	97320,55	98862,35	98129,97	98917,46	101222,02
Alpha-Isomethyl- -Ionon	374829,68	376335,84	373928,48	375762,95	362982,42	373509,90	373455,92
Hydroxy- citronellal	10162,60	10295,73	10074,15	10501,66	10721,16	10170,08	9886,20
Methyleugenol	510117,20	522885,13	527078,38	526301,45	511069,16	523772,49	507296,05
Zimtaldehyd	1553253,85	1561357,14	1611258,76	1513077,02	1524104,69	1531075,44	1534532,23
Lilial	955901,84	952441,80	978841,39	955570,13	964401,29	959593,44	943080,27
Majantol	198862,42	201412,08	206700,51	202109,12	199611,08	202669,13	203353,90
Eugenol	266305,35	264761,65	274631,67	254093,44	267343,94	263451,12	267563,20
Amylzimt- aldehyd	128418,46	128076,73	129929,87	125609,24	127357,76	127076,40	125971,51
Amylzimt- alkohol	68497,99	69131,59	70748,08	69100,46	68285,80	67145,811	67344,25

Anisalkohol	86688,28	87673,71	91649,22	91120,18	86978,36	88149,69	86485,11
Zimtalkohol	177216,59	175807,51	183052,18	176746,58	179060,24	179747,92	179065,50
Isoeugenol	125425,46	127479,54	130353,65	126405,03	131214,28	127787,51	124376,13
Farnesol	51343,09	49964,03	51109,02	52735,47	49995,20	52748,68	51019,43
Hexylzimt- aldehyd	142707,10	142644,71	146911,83	140022,09	141083,79	147439,98	140765,99
Cumarin	743864,67	744668,97	791247,39	736147,96	755727,89	770667,93	769967,46
Lyril	40668,40	41063,35	41071,37	41019,46	40247,82	41553,96	40628,37
Benzylbenzoat	256616,27	255764,83	266105,50	256280,57	258493,29	263740,00	256948,35
Benzylsalicylat	369046,29	368564,22	389451,36	366625,56	375156,38	385921,60	373618,57
Chloratranol	21155,30	25221,04	23405,70	21388,43	18804,52	20132,11	21709,47
Benzylcinnamat	80634,73	80458,47	88168,38	80518,75	83140,96	86022,87	82641,57
Atranol	13270,81	12995,84	14756,54	83568,78	15354,80	84616,22	98572,51

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt worden ist und ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Textstellen, die wörtlich oder annähernd wörtlich aus Veröffentlichungen entnommen wurden, sind durch Zitate als solche gekennzeichnet.

Ich erkläre weiterhin, dass die abgegebene digitale Version mit der eingereichten schriftlichen Arbeit übereinstimmt.

Ort, Datum

Unterschrift