

## Nasschemische Nachweise zur Identitätsprüfung von benevi neutral ISO-Intensivcreme

<b>Harnstoff</b>	Ein kleiner Klecks Creme (ca. 0,5 g) wird in einem Reagenz- oder Becherglas unter dem Abzug so lange erhitzt, bis deutlich sichtbare Dämpfe aufsteigen (ab ca. 160 °C). Die Dämpfe reagieren auf einem über das Reagenz- oder Becherglas gehaltenen, befeuchteten Indikatorpapier oder -Teststreifen alkalisch.
------------------	---

### **Kommentar:**

Beim Erhitzen von Harnstoff über seinen Siedepunkt hinaus, wird unter thermischer Zersetzung Ammoniak freigesetzt, der für die alkalische Reaktion mit dem befeuchteten Indikatorpapier oder -Teststreifen verantwortlich ist. Die in einer Testreihe mit verschiedenen Teststreifen gemessenen pH-Werte lagen zwischen pH 8 und 9 (vgl. Fotos). Eine genaue Bestimmung des pH-Werts ist allerdings entbehrlich, zumal dieser in einer gewissen Schwankungsbreite u. a. von der Zersetzungsgeschwindigkeit, der eingesetzten Crememenge und der punktuellen räumlichen Konzentration der Dämpfe (enge Öffnung eines Reagenzglases vs. weite Öffnung eines Becherglases) abhängig ist. Die alkalische Reaktion der Dämpfe funktioniert reproduzierbar und zuverlässig.

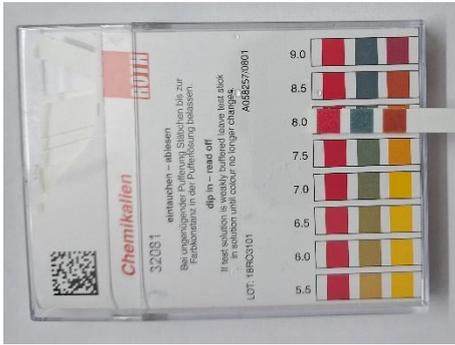
Beim regulären Nachweis der Reinsubstanz Harnstoff werden üblicherweise nicht die entstehenden Ammoniakdämpfe nachgewiesen, sondern das zweite bei der Zersetzung entstehende Reaktionsprodukt Imidodicarbonsäurediamid (Biuret). Ein solcher Nachweis war aus der vorliegenden Matrix jedoch nicht möglich. Hierfür sind zwei Gründe vorstellbar:

1. Dem bei der Zersetzung intermediär entstehenden Isocyanensäure stehen in der Matrix außer noch unzersetztem Harnstoff (Isocyanensäure + Harnstoff → Biuret) noch weitere potentielle Reaktionspartner zur Verfügung, sodass in nennenswertem Umfang Reaktionsnebenprodukte entstehen, die im Gegensatz zu Biuret mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen keinen roten Komplex bilden.
2. Das in der Creme enthaltene Panthenol reagiert mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen ebenfalls zu einem Komplex (vgl. Panthenol-Nachweis), dessen blaue Farbe sich mit der Farbe des Biuret-Kupfer-Komplexes überlagert und zusammen mit den im Ansatz verbleibenden, (teilweise angesengten) Cremeresten in Summe zu einer kaum definierbaren schmutzig-grauen Mischfarbe führt, die das Ergebnis uninterpretierbar macht.

Es wurden Versuche unternommen, den Harnstoff durch wässrige Extraktion und anschließende Filtration aus der Creme-Grundlage zu isolieren, dies scheitert jedoch an den enthaltenen Emulgatoren, die das Wasser in die Grundlage inkorporieren, sodass keine wässrige Phase abgetrennt werden kann.

Ein Nachweis des Harnstoffs in Form eines Biuret-Kupfer-Komplexes ist demnach aus der vorliegenden Grundlage nicht möglich. Es erscheint jedoch ein nachvollziehbarer und legitimer Ansatz, den Harnstoff indirekt über die Bildung des bei der Zersetzung entstehenden Ammoniaks nachzuweisen. In Kombination mit den übrigen, hier empfohlenen Nachweis-Reaktionen ergibt sich daraus ein wichtiges Indiz zur Bestätigung der Identität von benevi neutral ISO-Intensivcreme. Ein Vorteil besteht darüber hinaus darin, dass die reine Zersetzungsreaktion ohne anschließendes Abkühlen, Alkalisieren und Versetzen mit Kupfer(II)-sulfat-Lösung in den Apotheken schneller und leichter durchzuführen ist, als die vollständige Biuret-Kupfer-Komplexbildung. Der Beitrag, den der vorgeschlagene Nachweis, der bei der Zersetzung entstehenden, alkalischen Dämpfe zur Identitätsbestätigung leistet, kann zwar nicht ganz, jedoch als annähernd gleichwertig zur Bildung des Biuret-Kupfer-Komplexes angesehen werden, wenn man bedenkt, dass der pH-Wert der Grundlage ohne Erhitzen nicht alkalisch, sondern schwach sauer ist und dass bei keinem der übrigen Inhaltsstoffe die Bildung leicht flüchtiger, alkalischer Dämpfe bzw. Zersetzungsprodukte zu erwarten ist.

CAVE: Aufgrund anderer, unten den genannten Bedingungen möglicherweise entstehender toxischer oder zumindest reizender Zersetzungsprodukte, ist der Versuch zwingend unter dem Abzug durchzuführen.



<b>Panthenol</b>	Ein Klecks Creme (ca. 0,5 g) wird auf einer Tüpfelplatte mit 1 bis 2 Tropfen Kupfer(II)-sulfat-Lösung R versetzt. Es entsteht eine blaue Färbung.
<p><b>Kommentar:</b>  Der Zusatz von <math>\text{Cu}^{2+}</math>-Ionen führt zu einer Blaufärbung, die auf einer Komplexbildung der Pantoinsäure-Partialstruktur mit den <math>\text{Cu}^{2+}</math>-Ionen beruht, wobei sowohl die beiden Hydroxygruppen, als auch der Carbonyl-Sauerstoff der Amidfunktion als Liganden beteiligt sind.  In der unbehandelten Creme führt einzig das enthaltene Panthenol zu einer farbigen Komplexbildung mit <math>\text{Cu}^{2+}</math>-Ionen, da der ebenfalls enthaltene Harnstoff erst nach thermischer Zersetzung Reaktionsprodukte bildet, die mit <math>\text{Cu}^{2+}</math>-Ionen Komplexe bilden können (vgl. Harnstoff-Nachweis). Insofern verläuft die Farbreaktion von Panthenol mit Kupfer(II)-sulfat-Lösung ungestört. Zwar ist die Kupfer(II)-sulfat-Lösung selbst ebenfalls blau gefärbt, allerdings wird der kompakten, weißen Creme so wenig der Lösung zugesetzt, dass allein dadurch mit den bloßen Auge keine Färbung wahrnehmbar ist. Dies wurde exemplarisch durch Bildproben mit Panthenol-freien Cremes überprüft. Insofern kann durch den einfachen Mischtest auf der Tüpfelplatte ein zuverlässiges Indiz für den Identitätsnachweis von benevi neutral ISO-Intensivcreme generiert werden.</p>	
	
benevi neutral ISO-Intensivcreme	Panthenolfreie Blindprobe

<p><b>Magnesiumchlorid</b></p>	<p><i>Variante 1 im Reagenzglas:</i>  Ein Klecks Creme (ca. 0,5 g) wird in ein Reagenzglas gegeben. Anschließend werden 5 ml Natriumhydroxid-Lösung (3,5 g NaOH gelöst in 50 mL Wasser) sowie 0,5 mL Titangelb-Lösung R zugefügt. Das Reagenzglas wird mit einem Stopfen verschlossen und ca. 10 Sekunden kräftig geschüttelt. Dabei entsteht eine trübe Mischung mit einer deutlich erkennbaren Rotfärbung.</p> <p><i>Variante 2 auf der Tüpfelplatte:</i>  Ein Klecks Creme (ca. 0,5 g) wird auf eine Tüpfelplatte gegeben. Anschließend werden 4 Tropfen Natriumhydroxid-Lösung (3,5 g NaOH gelöst in 50 mL Wasser) sowie 2 Tropfen Titangelb-Lösung R zugefügt und die Mischung mit einem Glasstab verrührt bis eine deutlich erkennbare Rotfärbung eintritt.</p>	
<p><b>Kommentar:</b></p> <p>Im Alkalischen werden <math>Mg^{2+}</math>-Ionen in Magnesiumhydroxid überführt, das – je nach sonstigen Bestandteilen des Reaktionsansatzes – nicht bzw. kolloidal gelöst vorliegt. Der Diazoamino-Thioazol-Farbstoff Titangelb bildet im Alkalischen mit dem kolloidal gelösten Magnesiumhydroxid eine rötliche Adsorptionsverbindung (Farblack). Die sehr empfindliche Reaktion lässt noch ca. 0,2 mg/L Magnesium(II)-Ionen erkennen. Die Farbintensität korreliert mit der im Reaktionsansatz vorhandenen Magnesiummenge. Das Konzentrationsintervall, in dem Magnesium mit Titangelb sinnvoll nachgewiesen werden kann, ist nach unten dadurch begrenzt, dass eine ausreichend große Menge Magnesiumhydroxid im Reaktionsgemisch vorliegt, die eine sichtbare Farbwahrnehmung gewährleistet, und nach oben durch die Menge an Magnesiumhydroxid, die noch kolloidal in Lösung gehalten werden kann, bevor eine übermäßige Fällung aus der kolloidalen Lösung das Ergebnis durch eine zu starke Trübung schwer interpretierbar macht. Es wurden daher Verdünnungsreihen aufgesetzt, um eine gut reproduzierbare Färbung und einen zuverlässigen Nachweis der enthaltenen Magnesiumionen zu gewährleisten.</p> <p>Die Titangelb-Lösung besitzt einen gelb-orangen Farbton, der jedoch ganz eindeutig von der entstehenden Rotfärbung unterschieden werden kann. Zur Überprüfung der Eignung als spezifischer Identitätsnachweis für benevi neutral ISO-Intensivcreme wurden Blindproben mit Magnesium-freien Cremes durchgeführt, die mit bloßem Auge von einem positiven Nachweis eindeutig zu unterscheiden waren.</p>		
		
<p>Blindprobe (Ansatz ohne Creme-Probe)</p>	<p>benevi neutral ISO- Intensivcreme</p>	<p>Magnesiumfreie Blindprobe</p>



benevi neutral  
ISO-Intensivcreme



Magnesiumfreie Blindprobe

<b>Citronensäure</b>	Etwa 1 bis 1,5 Gramm Creme wird eine Mischung von 1 mL Acetanhydrid <i>R</i> und 3 mL Pyridin <i>R</i> zugesetzt. Unmittelbar nach der Zugabe der Reagenzien entwickelt sich eine zunächst hellgelbe Färbung, die binnen weniger Minuten in einen deutlich dunkleren Bronzeton übergeht.
<p>Citronensäure gibt mit Acetanhydrid und Pyridin eine Rotfärbung, die zur Unterscheidung von anderen Carbonsäuren wie z. B. Weinsäure dient. Erstes Zwischenprodukt ist nachweislich das Acetylcitronensäure-<math>\gamma</math>-anhydrid, das sich auch ohne Zusatz von Acetanhydrid in Pyridin rot färbt. Die genaue Struktur des roten Reaktionsprodukts ist noch ungeklärt, dennoch sieht auch das Arzneibuch diese Reaktion als einen von mehreren Nachweisen für Citronensäure vor. Die Spezifität des Nachweises wird als nicht sehr hoch angesehen, da auch andere (meist kurzkettige) organische Säuren positiv reagieren. Die Präsenz entsprechend reaktionsfähiger Säuren bzw. Säurereste in den verarbeiteten, natürlichen Fetten bzw. fetten Ölen (ggf. auch durch partielle Hydrolyse) ist zwar nicht ausgeschlossen, jedoch unwahrscheinlich zumal die ggf. vorhandenen Mengen nach rationalem Ermessen deutlich unter der Nachweisgrenze liegen.</p> <p>Der Reinstoff Citronensäure würde unter den gegebenen Bedingungen zu einer roten Färbung führen. Der mit benevi neutral ISO-Intensivcreme entstehende Bronzefarbtönen weicht davon ab, wofür ggf. folgende Gründe verantwortlich gemacht werden können:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Die Citronensäure-Konzentration der Zubereitung ist so gering, dass 2,5 g Cremegrundlage eingesetzt werden müssten, um eine dem Reinsubstanznachweis vergleichbare Citronensäure-Menge im Reaktionsansatz zu haben. Ein so hoher Substanzeinsatz erscheint für einen Einzelnachweis schwer vertretbar. Ferner würde im Reaktionsansatz dann das Verhältnis von der Grundlage zu den eingesetzten Lösungsmitteln deutlich verschoben.</li> <li>2. Aus der komplexen Matrix werden sich auch andere der zahlreichen lipophilen Bestandteile herauslösen und in die organische Phase übergehen, was mit der Bildung einer farbigen Lösung (Solvatochromie) einhergehen kann, die die klassische Rotfärbung durch Citronensäure teilweise überlagert. Dies erscheint auch insofern naheliegend, als sich bei der Durchführung des Versuchs makroskopisch wahrnehmbar, merkliche Anteile der Zubereitung in der organischen Phase lösen.</li> <li>3. Im Gegensatz zu reiner Citronensäure, kann die in der benevi neutral ISO-Intensivcreme enthaltene Citronensäure in vom Reinstoff abweichenden Ladungszuständen vorliegen, sowie teilweise an die Grundlage gebunden bzw. micellar eingeschlossen sein, sodass sie nicht in vollem Umfang für die Farbgebung zur Verfügung steht.</li> </ol> <p>Es erscheint daher nicht überraschend, dass aus der Matrix heraus nicht die für den Reinstoff typische Rotfärbung auftritt, dennoch ist die entstehende Färbung reproduzierbar und charakteristisch. Insbesondere wenn man die Betrachtung im zeitlichen Verlauf als zusätzliches Beurteilungskriterium berücksichtigt: die zunächst helle, gelbe Farbe geht in dem Maße in einen dunkleren Bronzeton über, wie Citronensäure aus der Matrix extrahiert bzw. ggf. aus micellaren Einschlüssen ganz oder teilweise freigesetzt wird (zunehmende Rotanteile durch freiwerdende Citronensäure).</p>	



Gelbfärbung nach fünfmaligem Umschütteln



Bronzefärbung nach ca. 90 Sekunden  
intensivem Schütteln