

N-Nitrosodiethanolamin (NDELA) in Mascara

Methodenentwicklung mit GC/MS

Heinkelein M., Mildau G., Kuballa T.



Einleitung

In Industrieländern ist N-Nitrosodiethanolamin (NDELA) eine ubiquitär vorkommende Spurenverunreinigung [1]. Die Bildung erfolgt in erster Linie aus sekundären Aminen und nitrosierenden Agenzien. Nitrosamine, die in vielen verschiedenen kosmetischen Produkten gefunden werden, stammen entweder aus verunreinigten Rohstoffen oder werden während der Herstellung oder Lagerung gebildet.

NDELA ist ein potentes Leberzell- und Nasenhöhlenkanzerogen bei Nagern [2] und wurde von der IARC in die Kategorie 2B eingestuft [3]. In einer Stellungnahme des BfR werden Proben als nicht verkehrsfähig eingestuft, sofern die ermittelten Gehalte nach „Good Manufacturing Practice“ (GMP) technisch vermeidbar sind und die Höchstmenge von 10 µg/kg überschritten ist [4].

Ziele

- Reproduzierbare, einfache Routinemethode
- Eindeutiger Nachweis von NDELA auch in komplexen Matrices

Methode

1. Probenaufarbeitung:

- Einwiegen der Probe
- Aufschlännen mit Wasser
- Zugabe des internen Standards (ISTD)
- Schütteln
- Über Nacht stehen lassen
- Zugabe von NaCl
- Schütteln
- Abzentrifugieren
- Klären des wässrigen Überstandes über einen Glaswollefilter

Als interner Standard wird selbst synthetisiertes, vierfach deuteriertes NDELA (NDELA-d₄) zur Probe zugesetzt.

2. SPE:

- Konditionieren der Kartuschen
- Aufgabe der wässrigen Probenlösung
- Waschen mit Wasser
- Trocknen
- Elution mit Methanol
- Trocknen der methanolischen Lösung über Na₂SO₄
- Einengen zur Trockene mit Hilfe des Rotationsverdampfers

3. Derivatisierung:

- Zugabe von BSTFA (1%TMCS-haltig) zum Rückstand
- Zugabe von Hexan
- Inkubation bei 50°C für zwei Stunden

4. Messung:

- Lösung gegebenenfalls abzentrifugieren
- Abfüllen in Vials
- Messung mittels GC/MS

GC/MS-Bedingungen

Gaschromatograph: 6890, Fa. Agilent
Massenspektrometer: Kodiak 1200, Bears Instruments
Trennsäule: DB-1701 (J&W Scientific, Waldbronn)
50 m, 0,25 mm I.D., 0,25 µm Film
Säulenfluss: 1 ml/min
Injektor: PTV KAS4, Fa. Gerstel
Injektionsvolumen: 1 µl
Injektionstemperatur: PTV: 25°C (0,1 min),
12°C/min auf 220°C (10 min),
12°C/min auf 280°C (10 min)
GC-Temp.Programm: 50°C (1min), 20°C/min auf 200°C,
2°C/min auf 220°C,
15°C/min auf 250°C (15 min)
Kopplung zum MS: Transferline (260°C)
Ionisierungsenergie (EI): 70 eV
SIM-Massen: Target: m/z 116, 118
Qualifier: m/z 130, 134

Fazit

Diese Methode basiert auf einer relativ einfachen Probenaufarbeitung. Durch die Zugabe des isotonenmarkierten internen Standards sind die Zuordnung in der Mascara-Matrix und volumenunabhängiges Arbeiten möglich. Bei denen eine Matrixstörung auftritt, ist eine weitere Aufarbeitung notwendig.

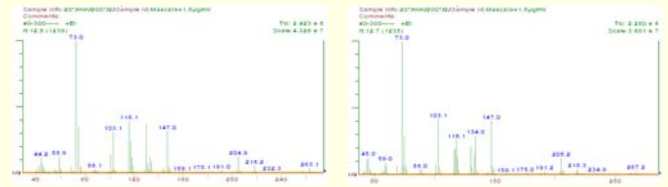


Abbildung 1: Massenspektrum von NDELA in der Matrix

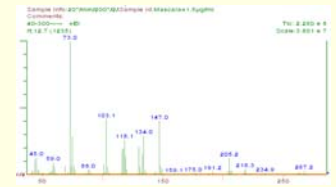


Abbildung 2: Massenspektrum des ISTD in der Matrix

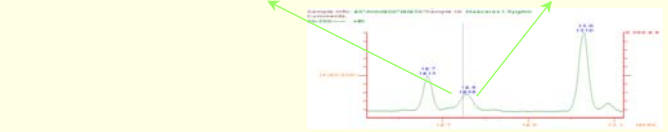


Abbildung 3: Auszug des unten gezeigten Chromatogrammes

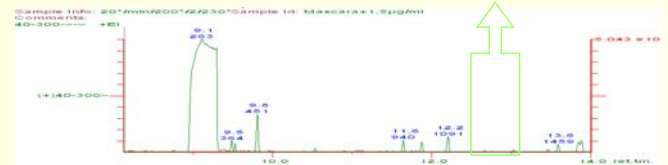


Abbildung 4: Mascaraprobe mit Zusatz von 1,5 µg NDELA und 1 µg ISTD im Scan-Modus gemessen

Ergebnisse

Untersucht wurden handelsübliche Mascara-Stifte, wobei die Auswahl nicht nach bestimmten Beschaffenheitsmerkmalen erfolgte. Zusätzlich wurde eine speziell konservierte Mascara-Matrix zu Versuchen eingesetzt. Über Standardaddition in dieser speziell konservierten Matrix kann der NDELA-Gehalt mit 333 µg/kg angegeben werden, in einer handelsüblichen Mascara wurden ca. 137 µg/kg nachgewiesen. In einer weiteren Versuchsreihe wurde durch Zusatz von je ~1 µg ISTD (n=5) gezeigt, dass diese Methode reproduzierbar ist (STABW: 0,0964, VK: 2,1%). Zusätze in zwei verschiedenen beschaffenen Matrices ergaben Wiederfindungsraten von 96,1% bzw. 102,7%. Die nach DIN 32645 berechnete Nachweisgrenze beträgt 25 ng/ml (ca. 50 µg/kg) und die nach der gleichen DIN-Methode berechnete Bestimmungsgrenze liegt bei 81 ng/ml (ca. 160 µg/kg).

Literatur

- [1] Schrothorst, R.C., Somers, H.H.J., (2005), *Determination of N-Nitrosodiethanolamine in cosmetic products by LC-MS-MS*. Anal. Bioanal. Chem. 381:681-685
- [2] Smith, A.M., Woodward, K.N., (1983), *N-Nitrosodiethanolamine (NDELA)*. Toxicity Review, 8, Paper No. 3, 17 pp
- [3] IARC Monographs, (2000), Vol. 17, Suppl. 7, Vol. 77.
- [4] Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), (2006), *Stellungnahme zu Befunden von Nitrosaminen in Wimperntusche*

