

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN - NEDERLAND

Rapportnummer 389103 002

**N-NITROSODIETHANOLAMINE (NDELA)
EN DE N-NITROSAMINEN PROBLEMATIEK
IN COSMETICA - EEN VOGELPERSPECTIEF**

HAMG Vaessen, EC van der Rijst en PHAM Melis

november 1995

Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van de Hoofdinspectie van de Gezondheidsbescherming (HIGB) van het Staatstoezicht op de Volksgezondheid en de Directie van het RIVM en is beschreven in project 389103 "Voeding en Gezondheid- teelt- en procescontaminanten" van het MAP (Meerjarenactiviteitenprogramma) Volksgezondheidsonderzoek 1994-1997 en project 502501 "Analytisch- chemische meetmethoden" van het MAP Directie 1994-1997

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, tel. 030-2749111, fax 030-2742971.

VERZENDLIJST

1 - 5	Hoofdinspecteur van de Gezondheidsbescherming (HIGB)
6	Directeur Gezondheidsbeleid
7	Veterinaire Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid
8	Directeur-Generaal van de Volksgezondheid
9	Regionaal Inspecteur van de Inspectie Gezondheidsbescherming (IGB) te Utrecht
10	Regionaal Inspecteur van de Inspectie Gezondheidsbescherming (IGB) te Enschede
11	Redactie "De Ware(n)-Chemicus"
12	Depôt van Nederlandse publikaties en Nederlandse bibliografie
13	Directie RIVM
14	Ir. AM Jellema
15	Dr. HA van 't Klooster
16	Prof. Dr. Ir. D Kromhout
17	Dr. RW Stephany
18	Drs. AKD Liem
19	Dr. Ir. RFMJ Cleven
20	Dr. RC Schothorst
21	Ir. HP van Egmond, Dr. LA van Ginkel, Drs. SS Sterk en Drs. AAM Stolker
22 - 24	Auteurs
25	Hoofd Voorlichting en PR RIVM
26 - 27	Bibliotheek RIVM
28	Bureau Rapportenregistratie
29 - 50	Bureau Rapportenbeheer

INHOUDSOPGAVE

Verzendlijst	2
Inhoudsopgave	3
Summary	4
Samenvatting	5
1. Inleiding	6
2. Nomenclatuur	7
3. Vóórkomen en vorming	9
4. Bepalingsmethoden	12
4.1 Algemeen	12
4.2 <i>N-nitrosodiethanolamine (NDELA) en 2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzooat (NMPABAO)</i>	14
4.2.1 NDELA	15
4.2.2 NMPABAO	16
5. Conclusies en aanbevelingen	17
6. Literatuur	19
 Bijlage I: Methoden van onderzoek voor de bepaling van NDELA, NDiPLA en NMPABAO in cosmetische produkten en hiervoor bestemde grondstoffen.	 24
 Bijlage II: Overzicht van afkortingen frequent gebruikt voor instellingen, detectoren, scheidings- en detectietechnieken en chemische verbindingen.	 26

NATIONAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH AND THE ENVIRONMENT
BILTHOVEN - THE NETHERLANDS

Report number 389103 002

**N-NITROSODIETHANOLAMINE (NDELA) AND
THE NITROSAMINES PROBLEM IN COSMETICS -
A VIEW FROM THE BIRDS-EYE**

HAMG Vaessen, EC van der Rijst and PHAM Melis

november 1995

SUMMARY

The N-nitrosamine problem in cosmetics has been reviewed on behalf of the Chief Inspectorate of Health Protection (HIGB). Problem issues that emerge from this review are NDELA (N-nitrosodiethanolamine) and NMPABAO (2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzoate). Data on the NMPABAO content of Dutch retail samples are lacking and those available for NDELA date back to the early eighties.

N-nitrosamines pose a potential consumer health risk and these compounds should not be present in cosmetic products. Since 1992 legal guidelines that restrict the occurrence of N-nitrosamines in cosmetics are operational in the European Union.

It is advised to analyse a selected number of Dutch retail samples for NDELA and NMPABAO and to develop an appropriate method of analysis. A combination of capillary gas chromatography and chemiluminescence detection with a Thermal Energy Analyzer (TEA) is estimated to be best suitable for this.

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN - NEDERLAND

Rapportnummer 389103 002

**N-NITROSODIETHANOLAMINE (NDELA)
EN DE N-NITROSAMINE PROBLEMATIEK
IN COSMETICA - EEN VOGELPERSPECTIEF**

HAMG Vaessen, EC van der Rijst en PHAM Melis

november 1995

SAMENVATTING

Op verzoek van de HIGB is de N-nitrosamine problematiek in cosmetische produkten in kaart gebracht. Deze spitst zich toe op de verbindingen NDELA (N-nitrosodiethanolamine) en NMPABAO (2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzooat). Gegevens over NMPABAO-gehalten in cosmetica van de Nederlandse markt ontbreken terwijl de informatie over NDELA-gehalten uit het begin van de tachtiger jaren stamt.

N-nitrosaminen vormen een potentiële bedreiging voor de gezondheid van de gebruiker en horen niet in cosmetica thuis. Sinds 1992 is er een wettelijke regeling van kracht in de Europese Unie wat het vóórkomen van N-nitrosaminen in cosmetica betreft.

Aanbevolen wordt een selectief aantal monsters van de Nederlandse markt te onderzoeken op NDELA en NMPABAO en de hiervoor benodigde analysemethode te ontwikkelen. De beste basis hiervoor is capillaire gaschromatografie in combinatie met chemiluminescentiedetectie met behulp van een Thermal Energy Analyzer (TEA).

1. INLEIDING

In november 1992 verscheen de 15^e richtlijn van de Commissie van de Europese Gemeenschappen over de aanpassing van de wetgeving in de lidstaten inzake cosmetische produkten (6.1). Deze richtlijn bepaalt o.a. dat met ingang van 1 juli 1993 *geen cosmetica meer op de markt mogen zijn waarin N-nitrosaminen (NA) of dialkanolaminen vóórkomen*. Een uitzondering wordt gemaakt voor produkten waarin als grondstoffen zijn gebruikt: dialkanolamiden van vetzuren, monoalkanolaminen en trialkanolaminen, verbindingen die als emulgatoren en oppervlakte actieve stoffen frequent in cosmetica worden gebruikt. Zowel het gebruik als de kwaliteit van deze grondstoffen is echter aan voorwaarden gebonden in verband met de potentiële nitrosamineproblematiek van de eindprodukten.

Bepaald wordt dat deze grondstoffen:

- niet mogen worden gebruikt in combinatie met nitroserende agentia,
- niet in verpakkingen (flessen, potten, vaten, enz.) mogen worden bewaard die nitrieten bevatten,
- ten hoogste 50 µg/kg aan N-nitrosodialkanolaminen (NDAA) mogen bevatten, en
- een maximaal gehalte aan dialkanolaminen (gemakkelijk nitroseerbare verbindingen) mogen bevatten van:
 - (i) 5% voor dialkanolamiden van vetzuren,
 - (ii) 0,5% voor monoalkanolaminen en trialkanolaminen.

Voor de Hoofdinspectie Gezondheidsbescherming (HIGB) was de publikatie van deze richtlijn aanleiding opnieuw aandacht te vragen voor de problematiek van de nitrosaminen in cosmetica en hiervoor onderzoekscapaciteit te reserveren in het Meerjaren Activiteitenprogramma (MAP) Volksgezondheidsonderzoek van het instituut.

Onderzoek van cosmetica op gehalte aan nitrosaminen en met name N-nitrosodiethanolamine (NDELA) werd, voor zover bekend, in Nederland voor het eerst in 1980 uitgevoerd (6.2). Aanleiding toen waren publikaties uit 1977 en de daaropvolgende jaren van o.a. de Food and Drug Administration (FDA) in Washington DC/USA over het vóórkomen van aanzienlijke hoeveelheden NDELA, tot 130 mg/kg, in cosmetica en hiervoor bestemde grondstoffen (6.3 en 6.4). Mede omdat van NDELA bekend was dat deze verbinding carcinogeen is voor ratten (6.5) en hamsters (6.6), is vooral aan het eind van de zeventiger jaren en het begin van de tachtiger jaren internationaal veel onderzoek verricht naar de aanwezigheid, de routes van onbedoelde introductie en de vorming van nitrosaminen in cosmetica. De hierdoor verkregen kennis over dit probleemveld is bepalend geweest voor de Europese regelgeving op dit gebied (6.1).

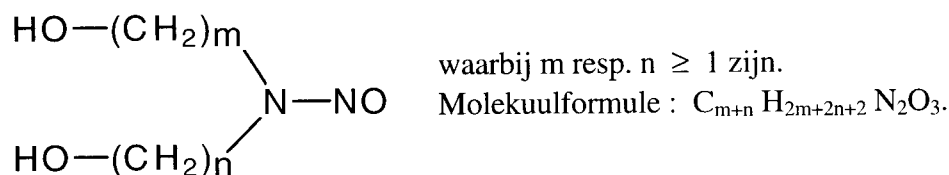
Toen de HIGB haar wens uitte om nitrosaminen in cosmetica te bepalen was ervaring met een methode die hiervoor geschikt is, en die voldoet aan de huidige kwaliteitseisen voor analysemethoden, niet operationeel. Bovendien was onbekend of naast NDELA ook andere N-nitrosaminen potentieel in het onderzoek moesten worden betrokken. Omdat van de tot nu toe toxicologische onderzochte 209 NA een groot aantal (85%) carcinogeen is gebleken (6.7), is vóórkomen van NA in cosmetica ongewenst gezien hun potentiële gezondheidswaarden. Dit geldt ook voor die verbindingen van deze groep die tot op heden nog niet dierexperimenteel zijn getest. Besloten werd daarom een literatuurstudie uit te voeren ten einde het probleemveld goed in kaart te brengen. Voornaamste uitgangspunten hierbij waren:

- het vóórkomen van NA in cosmetica met speciale aandacht, gezien de Europese richtlijn (6.1), voor de NDAA.
- de gebruikte analysemethoden en hun prestatiekenmerken.

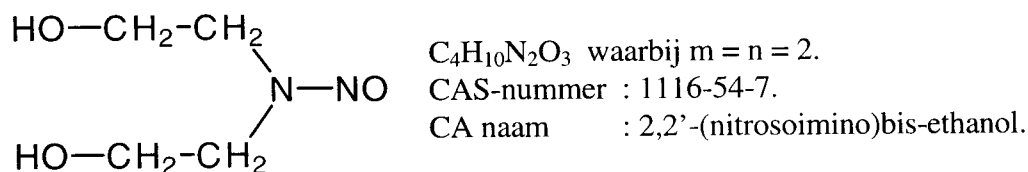
De resultaten van dit literatuuronderzoek, waarbij de bestanden Medline, Scisearch, Chemabs, Biosis en Embase zijn geraadpleegd, zijn gebundeld in dit rapport en bestrijken de periode 1977 tot heden.

2. NOMENCLATUUR

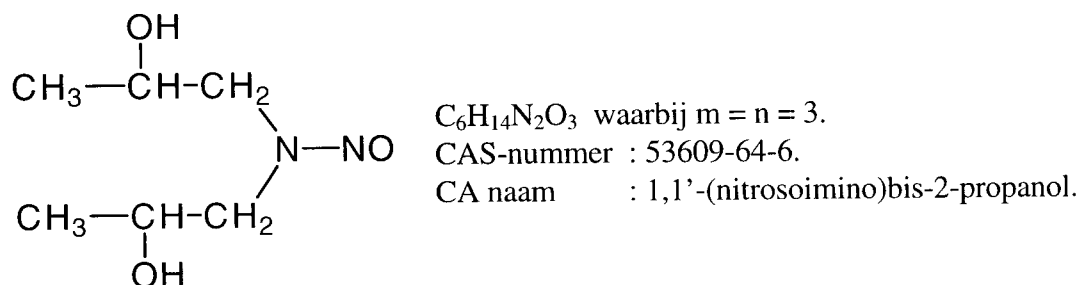
De term "N-nitrosodi-n-alkanolaminen" (NDAA) wordt gebruikt voor een groep van verbindingen met de volgende structuur:



De alcoholfunctie kan zowel primair als secundair zijn. De meest bekende, en tegelijkertijd het vaakst in cosmetica aangetroffen, vertegenwoordiger van deze groep van verbindingen is het N-nitrosodiethanolamine (NDELA):



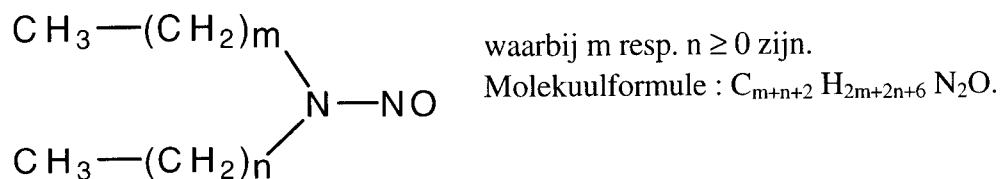
Minder bekend, en slechts incidenteel in cosmetische produkten en hiervoor bestemde grondstoffen aangetroffen, is het N-nitrosodiisopropanolamine (NDiPLA) met twee secundaire alcoholgroepen in het molecuul:



In de literatuur worden voor deze verbinding in plaats van NDiPLA ook wel de afkortingen NDHPA of NBHPA gebruikt. In dit rapport is gekozen voor NDiPLA omdat deze het meest voor de hand ligt en het beste aansluit bij de afkorting gebruikt voor andere NA.

Over andere NDAA dan NDELA en NDiPLA werd in geen van de beschikbare publikaties informatie gevonden.

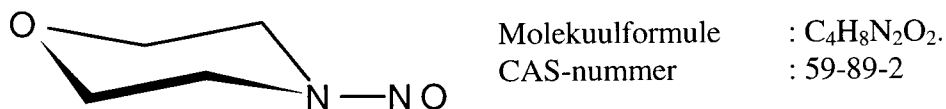
Sporadisch wordt in de literatuur bericht over N-nitrosodialkylaminen in cosmetica. Het betreft verbindingen met de basisstructuur:



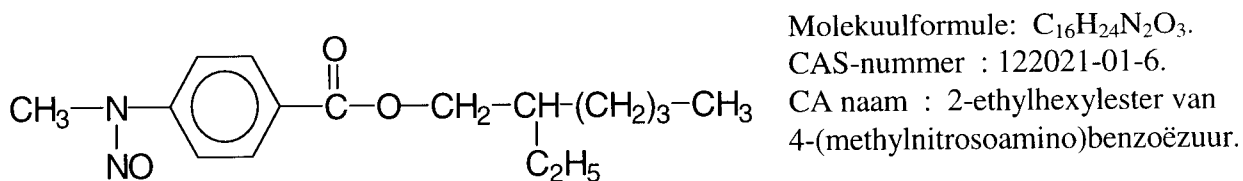
Verbindingen uit deze groep die in de literatuur incidenteel worden genoemd (6.8 t/m 6.10) zijn:

- NDMA ; N-nitrosodimethylamine
- NDEA ; N-nitrosodiethylamine
- NDPA; N-nitrosodipropylamine
- NDBA; N-nitrosodibutylamine
- NMDDA; N-nitroso-N-methyldodecylamine
- NMTDA; N-nitroso-N-methyltetradecylamine
- NMODA; N-nitroso-N-methyloctadecylamine

Onvermeld mag hier niet blijven dat sinds 1977 in twee publikaties (6.8 en 6.10) werd gerapporteerd over gehalten van N-nitrosomorfoline (NMOR); één van deze publikaties betrof cosmetica-grondstoffen (6.8). De structuur van deze verbinding is:



Bij marktonderzoeken in 1987 van cosmetica werd door de Food and Drug Administration (FDA/USA) een tot dan toe onbekende N-nitrosamine aangetroffen in tweederde van de onderzochte zonnecrèmes (6.8 en 6.11). Het betrof 2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzoaat (NMPABAO); een N-nitrosamine waarvan inmiddels is vastgesteld dat het door de huid van proefdieren wordt opgenomen (6.8). De structuur van NMPABAO is:



Ook bij daaropvolgende marktonderzoeken in 1988, 1991 en 1992 (6.8 en 6.11) werd deze stof in de meeste monsters aangetroffen.

3. VÓÓRKOMEN EN VORMING

In 1977 verscheen de eerste publikatie over het vóórkomen van een N-nitrosoverbinding in cosmetica (6.3). Het betrof onderzoekresultaten van monsters lotion, shampoo en huidverzorgingsmiddelen die in 1976 waren verzameld op de Amerikaanse markt. In 20 van de 29 onderzochte monsters werd NDELA gemeten, een N-nitrosamine waarvan reeds in 1967 de carcinogeniteit was gemeld (6.5). De gemeten NDELA-gehalten varieerden van 5 µg/kg tot 47 mg/kg, of ongeveer een factor 10000 (!!), per produkt (6.8). Na deze eerste publikatie is wereldwijd een golf van onderzoek op gang gekomen naar het vóórkomen, de besmetting met en de vorming van N-nitrosoverbindingen in cosmetische produkten en de hiervoor gebruikte grondstoffen. Uit de gepubliceerde resultaten blijkt dat daarbij tot nu toe alleen N-nitrosaminen (NA) zijn gevonden; hoofdstuk 2 geeft een overzicht. Voorts konden de exogene en endogene bronnen voor NA door gezamenlijke inspanning van industriële- en (semi)overheidsinstellingen worden getraceerd (6.8 en 6.11 t/m 6.14) en zijn inmiddels, o.a. in Europa, wettelijke maatregelen ter bescherming van de consument genomen; hoofdstuk 1 en referentie 6.1.

Ook wat betreft de samenstelling van cosmetische produkten zijn er door de fabrikanten maatregelen genomen. Zo let men scherp op de zuiverheid van de grondstoffen en probeert men door toevoeging van stoffen die de vorming van NA voorkomen of remmen, zogenaamde “scavengers”, het probleem te beheersen.

NA zijn gevonden in een grote verscheidenheid van cosmetische produkten. Zij kunnen hierin terecht komen door besmetting van de grondstoffen of het eindprodukt of kunnen hierin ontstaan uit een nitroserend agens en een nitroseerbare verbinding, de zogenaamde “precursors”. In de literatuur worden van slechts 5 studies resultaten vermeld van het onderzoek van cosmetische grondstoffen op N-nitrosaminen (6.8). Het aantal geteste monsters was kleiner dan 10 met uitzondering van een studie waarin 99 monsters werden bestudeerd (6.15). In deze laatste studie werd in 30% van de grondstoffen NDELA gemeten tot 1 mg/kg. Andere NA aangetroffen in grondstoffen zijn: NDiPLA en NMOR. Worden de NA-gehalten van grondstoffen vergeleken met het besmettingsniveau van de cosmetische produkten dan blijkt dat de grondstoffen hieraan slechts een ondergeschikte bijdrage kunnen leveren en dat de voornaamste besmettingsbron voor de vorming in het eindprodukt van NA dus de “precursors” moeten zijn.

Ook de besmetting met NA van de kant en klare produkten via de omgeving, b.v. de verpakking of de lucht, is verwaarloosbaar (6.15). De belangrijkste bronnen voor de potentiële vorming van NA in cosmetica zijn, zo blijkt uit de literatuur, de volgende groepen van stoffen: alkanolaminen, amiden, vetzure alkanolamiden, aminen (secundair, tertiair en quaternair), amine N-oxiden, aminozuren, peptiden, proteïnen, ureum en ureïden (6.11). Ondanks dit grote potentieel van nitroseerbare verbindingen, betroffen de meeste publikaties een zéér beperkt aantal NA met als voornaamste verbindingen NDELA en, sinds 1987, NMPABAO. Slechts één onderzoeker (6.10) vond tot nu toe in cosmetica de vluchtige N-nitrosamines: NDMA, NDEA, NDPA en NDBA. Hij onderzocht 145 monsters, van 11 verschillende soorten, en vond in 50 produkten NDMA-gehalten tot 24 µg/kg. Positief op respectievelijk NDEA, NDPA of NDBA, waren drie monsters met gemeten gehalten van resp. 15, 35 en 15 µg/kg. Overigens kon de bron voor deze verbindingen niet worden geïdentificeerd. Van de 145 monsters bleken er tevens 26 positief op NMOR met gehalten tot maximaal 640 µg/kg. NMOR-gehalten variërend van 48-1240 µg/kg werden naderhand eveneens door de FDA gerapporteerd. Hun onderzoek betrof 9 monsters verzameld in de periode 1984-1987 (6.8). Bron voor deze NA is zeer waarschijnlijk het gebruik van morfoline als pH-verbeteraar in badprodukten.

Drie andere N-nitrosodialkylaminen i.e. NMDDA, NMTDA en NMODA zijn tot op heden uitsluitend gevonden in haarverzorgingsmiddelen zoals shampoos en conditioners. Als zéér waarschijnlijke bron voor deze NA werden geïdentificeerd de in deze produkten veelgebruikte amine N-oxiden en quaternaire aminen (quats); voorbeelden: lauramine oxide [N,N-dimethyldodecylamine oxide], stearamine oxide [N,N-dimethyloctadecylamine oxide] en stearalkonium chloride [N-benzyl-N,N-dimethyl-octadecylammonium chloride]. De gemeten gehalten waren:

Tabel 1: Enkele literatuurgrenzen over het vóórkomen en het gehalte van NMDDA (N-nitroso-N-methyldodecylamine), NMTDA (N-nitroso-N-methyltetradecylamine) en NMODA (N-nitroso-N-methyloctadecylamine) in haarverzorgingsmiddelen.

N-nitrosamine	Monsters haarverzorgingsmiddel		Gehalte ; µg/kg (bereik)	Referentie
	aantal onder- zocht	aantal positief		
NMDDA	13	12	11 - 873	6.9
NMTDA	13	11	8 - 254	6.9
NMODA	53	11	28 - 969	6.16

Bij de screening van cosmetica op totaal NA-gehalte door de FDA in 1986/1987 werd in het chromatogram van sommige zonnecrèmes, die het UV-filter Padimate O [2-ethylhexyl 4-(N,N-dimethylamino)benzooat] bevatten, een grote piek van een onbekend NA ontdekt. Nader onderzoek leerde dat het om NMPABAO ging, een NA dat zeer waarschijnlijk door nitrosering ontstaat van het secundaire amine 2-ethylhexyl 4-(N-methylamino)benzooat, dat tot 3% als verontreiniging kan voorkomen in Padimate O. Het tertiaire amine Padimate O blijkt bij nitrosering echter zelf ook als NMPABAO bron te kunnen fungeren (6.8). Bij vervolgonderzoek van de FDA van cosmetica waarin potentieel Padimate O als grondstof (UV-filter) wordt gebruikt werd in meer dan 45% van deze produkten NMPABAO aangetroffen in gehalten tot 20 mg/kg. In het onderstaande overzicht zijn de FDA-meetresultaten samengevat:

Tabel 2: Enkele literatuurgrenzen over het vóórkomen en het gehalte van NMPABAO (2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzooat) in cosmetische produkten.

Jaar	Cosmetica monsters *		NMPABAO-gehalte; µg / kg	
	aantal	NA positief	gemiddeld	bereik
1987	29	19	674	60 - 2820
1988	8	6	543	170 - 1300
1991	38	18	3426	160 - 20520
1992	14	14	2132	780 - 5050

* Overwegend zonnecrèmes

Veel vaker, en veelal in hogere concentraties dan de tot nu toe besproken verbindingen, wordt N-nitrosodiethanolamine (NDELA) aangetroffen in cosmetica. De verklaring hiervoor is overigens voor de hand liggend omdat de grondstoffen die een potentiële bron ("precursors") voor NDELA vormen op grotere schaal en in een veel breder assortiment van produkten toegepast worden. Als precursors voor NDELA gelden met name mono- en trialkanolaminen en vetzure mono- en dialkanolamiden (6.8 en 6.17); grondstoffen die veelvuldig als niet-ionogene oppervlakte-actieve stoffen worden gebruikt. De recente Europese regelgeving, genoemd in de inleiding, is met name dan ook op deze grondstoffen geënt en stelt grenzen aan de verontreiniging van deze produkten met de zeer gemakkelijk nitroseerbare dialkanolaminen (6.1).

Door de FDA worden, sinds de eerste publikatie 1977 over NDELA, vrijwel jaarlijks cosmetica van de Amerikaanse markt op deze NA onderzocht (6.8, 6.11 en 6.12). Dit in tegenstelling tot Europa waar sinds het eind van de tachtiger jaren de belangstelling voor NA in cosmetica sterk geluwd is. Tot het begin van de tachtiger jaren werden regelmatig hoge uitschieters, incidenteel tot 120 mg/kg, voor NDELA gemeten (6.11). Nadien kwamen zulke uitschieters niet meer voor mede doordat, op basis van het verkregen inzicht in de bronnen van besmetting en vorming van NA, de nodige maatregelen ter beheersing van de problematiek konden worden genomen. Toch zijn nog regelmatig NDELA-gehalten tot enkele mg/kg (ppm's) gevonden zoals blijkt uit het onderstaande overzicht van resultaten van marktmonsters verzameld in de periode 1986 / 1992 (6.11, 6.17 en 6.18):

Tabel 3: Literatuurgegevens over het vóórkomen en het gehalte van NDELA (N-nitrosodiethanolamine) in cosmetische produkten

Jaar van bemonsteren	Cosmetica monsters		NDELA gehalte; bereik in µg/kg	Referentie
	aantal	NA-positief		
1986	2	0	*	6.11
	44	18	7 - 2000	6.17
	20	8	7 - 2000	6.18
1987	127	16	10 - 235	6.17
	6	0	*	6.11
1989	2	0	*	6.11
1991	8	5	120 - 1080	6.11
1992	12	8	210 - 2960	6.11

* Onder de bepalingsgrens van de analysemethode

In Nederland is onderzoek naar NA in cosmetica op beperkte schaal uitgevoerd in de tachtiger jaren (6.2 en 6.19). Het betrof hier uitsluitend onderzoek op NDELA en NDiPLA. De resultaten die hierbij werden verkregen zijn samengevat in het onderstaande overzicht en liggen geheel in het verlengde van recente gegevens uit andere landen; zie voorgaand overzicht.

Tabel 4: Gegevens over het voorkomen en het gehalte van NDELA (N-nitrosodiethanolamine) en NDiPLA (N-nitrosodiisopropanolamine) in cosmetische producten van de Nederlandse markt.

Verbinding	Cosmetica monsters		Gehalte; bereik in µg/kg	Referentie
	aantal	NA positief		
NDELA	26	7	200 - 1000	6.2
NDELA	26	10	130 - 1150	6.19
NDiPLA	26	1	600	6.19

Naast een nitroseerbare verbinding is voor de vorming van NA de aanwezigheid vereist van een nitroserend agens. NA ontstaan vrij gemakkelijk in waterig milieu uit secundaire amines en nitriet als nitroserend agens. Het optimum van deze reactie ligt bij een pH van 3,4; tertiaire amines reageren een factor 10 tot 100 langzamer en primaire amines niet (6.14). Alhoewel cosmetica praktisch neutraal zijn kan er ook bij deze pH onder ongunstige omstandigheden, b.v. bij aanwezigheid van nitriet (50 mg/kg) in een 1% diethanolamine emulsie (pH 6,8), NA vorming optreden (6.17).

Nitriet komt via de grondstoffen in cosmetica terecht. Bij een uitgebreid inventariserend onderzoek werden in 14% van de 114 grondstoffen nitrietgehalten gemeten groter dan 50 µg/kg (6.15). Evaluatie van deze gegevens leidde echter tot de conclusie dat deze gehalten en nitroseringsbron niet bepalend kunnen zijn voor de NA-problematiek in cosmetica. Andere nitroseringsbronnen en -mechanismen moeten dus een grotere rol spelen. Bij studies hiernaar zijn als potentiële nitroseringsbronnen geïdentificeerd:

- alkylnitrieten (6.20), en vooral
- nitroverbindingen als Bronopol en Bronidox (6.17 en 6.21)

Bronopol (2-bromo-2-nitropropaan-1,3-diol) en Bronidox (5-bromo-5-nitro-1,3-dioxaan) zijn conserveermiddelen die regelmatig in cosmetica gebruikt worden. Zij fungeren hierin als formaldehyde depôtverbinding, dwz. dat zij geleidelijk ontleden onder vorming van formaldehyde en andere ontledingsproducten waaronder nitriet. Uit de literatuur kan worden opgemaakt dat wanneer deze conserveermiddelen in een cosmetisch produkt zijn gebruikt, naast vetzure alkanolaminen en/of alkanolaminen, hierin vaak NDELA of incidenteel een ander N-nitroso-alkanolamine wordt gemeten.

4. BEPALINGSMETHODEN

4.1 Algemeen

Voor onderzoek van cosmetische producten op individuele NA worden in de literatuur verschillende analysemethoden aanbevolen die, met name wat betreft de toegepaste meetmethode, nogal uiteenlopen. In een uitvoerig overzichtsartikel uit 1990 worden de gepubliceerde werkwijzen systematisch geïnventariseerd (6.12). Globaal kunnen deze worden ingedeeld naar methoden voor vluchtige en niet-vluchtige verbindingen. Voor vluchtige NA worden methoden gebruikt waarbij gaschromatografische (GC) scheiding wordt gecombineerd met detectie via vlamionisatie

(FID), massaspectrometrie (MS), chemiluminescentie (CL), electronen invang detectie (ECD), enz. Niet vluchtige NA worden vloeistofchromatografisch (HPLC) gescheiden en vervolgens gemeten met detectietechnieken als spectrometrie (UV/VIS), electrochemie, fluorescentie, MS en CL. Voorafgaande aan de scheiding en detectie moeten de NA door extractie uit cosmetica worden geïsoleerd waarna het extract verder wordt bewerkt om dit zoveel mogelijk te ontdoen van meegeëxtraheerde matrixbestanddelen en om de NA te concentreren.

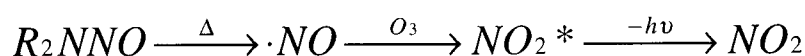
In het algemeen zijn de HPLC-scheidingstechnieken en meetmethoden minder gevoelig voor het bepalen van NA dan de GC-scheidings en detectie combinaties. Een uitzondering hierop zijn de combinaties HPLC-CL met een Thermal Energy Analyser (TEA) als detector en HPLC-MS. In de praktijk is het bedrijfszeker koppelen en functioneren van HPLC met de TEA- of MS-detector echter een moeilijk oplosbaar technisch probleem (6.22 t/m 6.24) dat tot nu toe een te grote hindernis vormt voor het toepassen van deze combinaties voor grote aantallen praktijkmonsters.

Om ook voor niet-vluchtige NA de vaak in de praktijk gewenste grotere meetgevoeligheid te bereiken kan een aantal van deze verbindingen, waaronder met name diegene die relevant zijn voor cosmetica, worden omgezet in vluchtige NA. Silylering geniet hier verre de voorkeur waarbij met name als derivatiseringsreagens wordt gebruikt MSHFBA (N-methyl-N-trimethylsilyl-heptafluorobutyramide). Incidenteel wordt niet gesilyleerd maar b.v. gehydrochloreerd met thionylchloride (SOCl₂) in combinatie met oxideren van de N-nitroso-groep tot een N-nitro-groep met behulp van peroxitrifluorazijnzuur (6.25).

Bij de bepaling van NA moet rekening worden gehouden met de potentiële vorming van deze verbindingen omdat in de monsters nog nitroserende en nitroseerbare verbindingen aanwezig kunnen zijn. Om dit risico te verkleinen worden bij het begin van de opwerking ammoniumsulfamaat of natriumascorbaat toegevoegd. Deze stoffen reageren veel sneller dan nitroseerbare verbindingen met eventueel aanwezige nitroserende agentia en blokkeren zo de NA vorming.

Meer dan driekwart van de gepubliceerde gegevens over NA in cosmetica werd verkregen met een analysemethode waarbij chemiluminescentie (CL) als detectiemethode is gebruikt. Als detector wordt hiervoor gebruikt een zogenaamde Thermal Energy Analyser (TEA) die, met uitzondering van MS, specifiek en gevoeliger is dan de andere voor NA aanbevolen detectoren (6.12).

De selectiviteit van de TEA detector is gebaseerd op de volgende reactie:



In de pyrolysebuis van de TEA-detector worden de NA, bij ca. 500°C en lage druk, thermisch gesplitst onder vorming van nitrosylradicalen ($\cdot NO$). Nadat in een serie van koude vallen of adsorptiebuisen de begeleidende organische resten en verbindingen uit de gasstroom zijn verwijderd, wordt deze in een onder vacuum staande reactiekamer geleid. Het nitrosylradicaal wordt hier met ozon omgezet in elektronisch geëxciteerd stikstofoxide (NO_2^*). Bij de terugval in de grondtoestand van het geëxciteerde stikstofdioxide wordt licht uitgezonden van een karakteristieke golflengte dat met een fotomultiplier wordt gedetecteerd en dat proportioneel is met de nitrosylconcentratie in de gasstroom.

Alhoewel de TEA-detector een hoge selectiviteit en gevoeligheid (1-5 ng per NA) heeft voor NA is bekend, en goed gedocumenteerd, dat ook sommige andere verbindingen een TEA-signaal geven. Voor cosmetica zijn hiervan met name van belang enkele organische nitroverbindingen, die als synthetische muskus geurstoffen worden gebruikt (muskus keton, musk ambrette, musk mosken, musk tibeten, musk xyleen) ter vervanging van het zéér kostbare natuurlijke muskus. Muskus geurstoffen worden o.a. gebruikt in shampoo en bad- en doucheprodukten.

Bestaat de indruk dat een TEA-sigitaal niet afkomstig is van NA dan kan dit echter vrij gemakkelijk worden gecontroleerd door het betreffende extract met UV-licht te bestralen en vervolgens opnieuw te injecteren. NA ontleden (fotolyse) bij bestralen onder UV-licht en geven dus bij herinjectie geen TEA-sigitaal meer; organische nitroverbindingen vertonen dit gedrag niet. Interessant in dit verband is overigens dat één van de koppelingen van de TEA-detector met de HPLC-scheiding van NA is gebaseerd op deze fotolyse.

Nadelen van de TEA-detector zijn:

- kostbaar in aanschaf, gebruik en onderhoud;
- ongeschikt voor andere verbindingen dan NA.

Op ruime afstand van de TEA staat als tweede de massaspectrometer op de schaal van meest gebruikte detectoren bij het NA onderzoek. De MS detector wordt echter vrijwel altijd naast een andere detector gebruikt, b.v. de TEA, ter bevestiging van bestaande en identificatie van nieuwe NA.

Naast de bepalingmethoden voor individuele NA zijn twee werkwijzen ontwikkeld voor het onderzoek van cosmetica op totaal NA-gehalte; zogenaamde screeningsmethoden (6.12 en 6.26). Bij de methode ontwikkeld door de FDA (6.26) worden, na een eenvoudige voorbereiding van het monster, de NA met een oplossing van broomwaterstof / azijnzuur of joodwaterstof / azijnzuur / zwavelzuur chemisch gedenitroseerd waarbij stikstofmonoxide (NO) ontstaat. Dit wordt met een spoelgas in de TEA-detector geleid en gemeten. De tweede screeningsmethode is een colorimetrische methode ontwikkeld in opdracht van de Amerikaanse Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (CTFA). Ook hierbij wordt chemische denitrosering van NA toegepast, nu echter in combinatie met de Griess-kleuringsreactie voor nitriet, gevolgd door HPLC-scheiding en bepaling van de gevormde kleurstof.

Wat betreft beide screeningsmethoden kan worden opgemerkt dat:

- de colorimetrische methode storingsgevoelig is en feitelijk alleen geschikt is voor screening van bepaalde grondstoffen, en dat
- de FDA-methode, gepubliceerd in 1987, buiten deze instelling nog geen toepassing heeft gevonden.

Eén van de redenen hiervoor is zéér waarschijnlijk dat de combinatie van denitroseringsapparatuur / TEA-detector omslachtig in het gebruik is.

4.2 *N-nitrosodiethanolamine (NDELA) en 2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzoesaat (NMPABAO).*

Uit de beschouwingen in het vorige hoofdstuk komt duidelijk naar voren dat, van de NA waarover tot nu toe in de literatuur is gepubliceerd, NDELA het vaakst in cosmetica wordt gevonden in hoeveelheden die vanuit volksgezondheidsoogpunt bedenkelijk zijn. Sinds de publikatie (6.8) van de resultaten van het FDA-onderzoek van monsters zonnebrandmiddel uit 1987 en de daarop volgende jaren, moet NMPABAO hieraan worden toegevoegd. Daarom werd de literatuurstudie toegespitst op deze verbindingen. De methoden van onderzoek beschreven voor beide NA zijn samengebracht in Bijlage I. De accenten zijn bij deze bundeling gelegd bij: soort matrix, monstervoorbereiding, scheiding en detectie.

4.2.1 NDELA

Voor de NDELA bepaling worden HPLC-TEA- en GC-TEA-werkwijzen het meeste aanbevolen, gevolgd door HPLC-UV-technieken en incidenteel HPLC-polarografie, GC-ECD en GC-ELCD. Voor bevestiging en structuur opheldering wordt GC-MS gebruikt. Opvallend is dat de GC-TEA publikaties overwegend van méér recente datum zijn dan de werkwijzen die HPLC-TEA beschrijven.

Bij de HPLC-TEA-werkwijzen wordt overwegend normale fase of "straight phase" chromatografie op silicagel kolommen toegepast. Voordeel hiervan is dat met tamelijk a-polaire (niet waterige) loopvloeistoffen kan worden gewerkt zoals bv. isooctaan / ethanol (80:20 ; v/v), debiet 2 ml/min (6.32). Dit is belangrijk omdat in de pyrolysebuis, die zich tussen de HPLC-kolom en de onder vacuum staande reactiekamer van de TEA-detector bevindt, grotere hoeveelheden van de analytische kolom komende loopvloeistoffen, typisch 1 à 2 ml, snel moeten verdampen om vervolgens via koelvallen achter de pyrolysebuis te worden verwijderd. Dit is qua bedrijfsvoering een moeizame en storingsgevoelige stap.

Vanwege het hoge kookpunt van NDELA wordt bij GC-methoden, op één publikatie (6.35) en applicatie na (6.42), NDELA voor de GC-scheiding omgezet in een vluchtiger derivaat. Gewoonlijk wordt NDELA hiertoe gesilyleerd waarbij MSHFBA het meest wordt toegepast. Wordt niet gederiviseerd, dan moet contact met metalen oppervlakken of koele delen van de meetopstelling worden vermeden in verband met potentiële staartvorming van het meetsignaal. Ook moet de koppeling van de GC-kolom en de pyrolysebuis extra worden verwarmd en moet de pyrolysebuis-temperatuur op 500 a 600°C worden gehouden.

De NDELA-isolatiemethoden variëren van mengen van het monster met water (suspenderen) tot meer uitgebreidere werkwijzen waarbij twee of meer chromatografiekolommen voor extractie worden gebruikt. Opvallend is dat hierbij vaak wordt gekozen voor de Extrelut-kolom, meestal nog gevolgd door verdere zuivering over een silica- of Sep-Pak-kolom. Verder worden ook extractiemethoden beschreven waarbij uitsluitend via silica-, Celite- of ionenwisselaarkolommen wordt gewerkt.

Een aantal publikaties beschrijft de isolatie van NDELA uit cosmetica in combinatie met vloeistof / vloeistof-extractie, eventueel in combinatie met verdere zuivering via een silica of een Sep-Pak-kolom (6.19, 6.25 en 6.29). Vloeistof / vloeistof-extractie is echter vaak tijdrovend en bewerkelijk, o.a. in verband met emulsiëvorming, en vergt doorgaans aanzienlijke hoeveelheden oplosmiddel.

Slechts één van de NDELA-analysemethoden is getest in een ringonderzoek (6.43). Het betreft de GC-TEA-methode beschreven door Sommer et al. (6.18) die door 10 Duitse en 1 Engels laboratorium gemeenschappelijk is bestudeerd. De deelnemers waren daarbij vrij in de keuze van de GC-kolom, de interne standaard en het reagens voor het vormen van het trimethylsilylderivaat van NDELA. De overige analyse-omstandigheden waren zoals beschreven in 6.18.

Een emulsie, een douchegel en de cosmetica grondstof trimethylamine werden gemeenschappelijk onderzocht; alle monsters waren verrijkt met 50 µg/kg NDELA. Het gemiddeld gemeten gehalte en de daarbij behorende standaarddeviatie bedroeg 50 ± 9 µg/kg voor de emulsie, 53 ± 8 µg/kg voor de douchegel en 47 ± 10 µg/kg voor de grondstof. Op één deelnemer na gaven de laboratoria als ondergrens van bepaalbaarheid op 10 µg/kg.

Bij slechts één van de gepubliceerde GC-methoden wordt gebruik gemaakt van een capillaire kolom voor de scheiding van NDELA van de rest van de begeleidend matrixbestanddelen (6.36). Alle andere GC-kolommen zijn van het gepakte type. Dit is zeer opmerkelijk omdat bij sporenonderzoek met behulp van GC de laatste jaren bij voorkeur gebruik gemaakt wordt van capillaire

kolommen vanwege hun veel hoger scheidend vermogen en de smallere piekbreedte, en dus grotere gevoeligheid, in vergelijking met gepakte kolommen. Zowel voor het gebruik van capillaire kolommen bij NA onderzoek in het algemeen als voor de bepaling van NDELA met GC-TEA is interessant, dat recent een Rtx®-5 amine capillaire kolom is geïntroduceerd (6.44) waarmee mono-, di- en triethanolamine kunnen worden bepaald, zonder voorafgaande omzetting in meer vluchtige verbindingen. Opmerkelijk in dit verband is verder dat recent eveneens commercieel verkrijgbaar is een capillaire kolom die inwendig is gecoat met een film van Carbowax-20M/KOH. Dit is een capillaire variant van de gepakte Carbowax-20M/5% KOH kolom die zéér veel wordt gebruikt bij de bepaling van vluchtige en minder-vluchtige NA met GC-TEA.

4.2.2 NMPABAO

Over de bepaling van NMPABAO zijn tot nu toe twee publikaties verschenen (6.21 en 6.41). Echter, uit het overzichtsartikel van Havery et al. (6.11) blijkt dat ook de FDA een analysemethode heeft ontwikkeld waarvan het manuscript in 1994 is aangeboden voor publikatie in J. Assoc. Off. Anal. Chem. Verschenen is deze publikatie tot op heden echter nog niet.

Eén artikel (6.22) beschrijft twee werkwijzen: HPLC-TEA en HPLC-MS. In beide gevallen wordt een “particle beam interface” gebruikt voor de koppeling met de detector. Met deze speciale koppeling kunnen grotere hoeveelheden HPLC-eluens worden verwijderd waardoor omgekeerde fase of “reversed phase” chromatografie met oplosmiddelen als methanol, water of acetonitril mogelijk wordt. Beschreven worden de resultaten voor drie verschillende “reversed phase” kolommen waarbij zowel isocratisch als met gradiënt wordt gewerkt.

Het tweede artikel beschrijft eveneens een HPLC-TEA-methode waarbij nu echter “straight phase” chromatografie wordt toegepast (6.41). Het hart van de HPLC-TEA-koppeling vormt een schakelkraan die de kolom met de detector alleen verbindt op het moment dat de NMPABAO-fractie elueert. Voor een goede scheiding van NMPABAO van de meegeïsoleerde matrixbestanddelen worden twee HPLC-kolommen in serie geschakeld. Verder bevindt zich tussen de schakelkraan en de HPLC-kolom nog een UV-detector waarvan de golflengte is ingesteld op 280 nm. Mede op basis van het signaal van deze detector kan de schakelkolom op tijdbasis worden geactiveerd.

De auteurs geven als detectiegrens op 30 µg/kg waarbij deze grens is gedefinieerd als die hoeveelheid NMPABAO die een signaal/ruis-verhouding geeft van 2. Voor lotion werden terugwinningsexperimenten uitgevoerd op het niveau van 500 en 2000 µg/kg. De gemiddelde gemeten terugwinning bedroeg resp. 85% (N = 6; CV = 5%) en 92% (N = 6; CV = 2%).

5. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Het beeld dat uit deze inventarisatie van de NA-problematiek in cosmetische produkten op doemt is er een dat zich toespitst op de verbindingen NDELA en NMPABAO waarvan hoeveelheden tot het mg/kg niveau in deze produkten zijn gevonden. Beide verbindingen horen niet in cosmetica thuis en vormen een potentieel risico voor de gezondheid van de gebruiker. Volgens de vigerende regelgeving mogen in de Europese Unie géén cosmetica op de markt worden gebracht die NA bevatten. Een uitzondering wordt gemaakt voor NDAA zoals NDELA. Voor deze groep van NA worden grenzen gesteld aan het gehalte dat voor cosmetica bestemde grondstoffen ten hoogste mogen bevatten.

In de meeste produkten die NDELA bleken te bevatten waren als grondstoffen alkanolaminen of vetzure alkanolamiden verwerkt naast Bronidox, Bronopol of formaldehyde als conserveermiddel.

NMPABAO werd met name aangetroffen in zonnecrèmes die als UV-filter Padimate O bevatten. Begin tachtiger jaren zijn voor het eerst, en meteen ook voor het laatst, cosmetica van de Nederlandse markt onderzocht op NDELA en NDiPLA. De gehalten die daarbij werden gevonden lagen op hetzelfde niveau als elders in Europa en de Verenigde Staten werd gemeten. In het licht van de in 1992 afgekondigde EU-regeling voor NA in cosmetica ligt het voor de hand de situatie in Nederland voor NDELA opnieuw te inventariseren en daarbij dan ook met name NMPABAO te betrekken, omdat informatie over dit NA in monsters van de Nederlandse markt ontbreekt. Het verzamelen van de voor dit onderzoek benodigde monsters moet in nauwe samenwerking met de IGB te Enschede worden uitgevoerd en moet met name op die monsters worden gericht waarin grondstoffen zijn verwerkt waaruit NDELA en/of NMPABAO kan ontstaan.

Voor de detectie van NA wordt overwegend de TEA detector gebruikt vanwege zijn hoge gevoeligheid en selectiviteit. Voor de NDELA-bepaling wordt deze gecombineerd met HPLC- of GC-scheiding en voor NMPABAO tot nu toe alleen met HPLC-scheiding van de componenten. Valt de keuze op een GC-TEA-methode dan wordt, voorafgaande aan de GC-scheiding, NDELA meestal eerst gesilyleerd. GC-TEA-bepaling is echter ook mogelijk zonder voorafgaande derivatisering van NDELA. Aanbevolen wordt met name deze laatste mogelijkheid te exploreren voor zowel NDELA als NMPABAO in combinatie met het gebruik van capillaire kolommen, ontwikkeld voor de GC-scheiding van aminen en alkanolaminen.

Bij de isolatie van NDELA uit cosmetische produkten wordt veel gebruik gemaakt van chromatografiekolommen van het type Extrelut. Deze wijze van isoleren wordt gecombineerd met verdere opwerking van de extracten via Sep-Pak- of silicakolommen. Vloeistof / vloeistof-extractie wordt eveneens beschreven voor de NDELA-isolatie maar is veel minder aantrekkelijk.

Op grond van de evaluatie van de NDELA en NMPABAO analysemethoden lijken de monstervoorbewerkingen beschreven in 6.18 en 6.38 het beste uitzicht te bieden op een succesvolle operationalisering in combinatie met GC-TEA-scheiding en detectie. Met name de werkwijze beschreven in 6.43 is interessant omdat dit de enige methode is die, zij het slechts gedeeltelijk, getest is in een ringonderzoek.

Samenvattend wordt aanbevolen om:

- in opdracht van de HIGB, en in nauwe samenwerking met de IGB te Enschede voor de bemonstering, onderzoek uit te voeren naar het gehalte van NDELA en NMPABAO in een selectief aantal cosmetica monsters van de Nederlandse markt.

- een analysemethode te ontwikkelen voor de bepaling van NDELA en NMPABAO met behulp van GC-TEA. De aandacht hierbij moet met name worden gericht op de mogelijkheid om NMPABAO en NDELA, deze laatste zonder voorafgaande derivatisering, te chromatograferen op een capillaire kolom. Voor de monstervoorbewerking kan het beste worden gemikt op isolatie van de analyten via een Extrelut-kolom en een verdere zuivering en concentratie via andere chromatografiekolommen.

6. LITERATUUR

- 6.1 Commissie van de Europese Gemeenschappen
"Vijftiende Richtlijn 92/86/EEG van de Commissie van 21 oktober 1992 tot aanpassing van de vooruitgang van de techniek van de bijlagen II, III, IV, V, VI en VII van Richtlijn 76/768/EEG van de Raad betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgeving der Lid-Staten inzake cosmetische producten."
Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen, nr L 325, (1992) 18-22
- 6.2 Ellen G en Egmond E
"Oriënterend onderzoek naar het voorkomen van N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in cosmetica."
Bilthoven, RIV, 1980
RIV rapport nr 186/80 LCLO (648002 001)
- 6.3 Fan TY, Goff U, Song L, Fine DH, Arsenault GP and Biemann K
"N-nitrosodiethanolamine in cosmetics, lotions and shampoos."
Food Cosmet. Toxicol. 15 (1977) 423 - 430
- 6.4 Wisneski HH, Yates RL and Wenninger JA
"Progress report on the analysis of cosmetic products and raw materials for N-nitrosodiethanolamine."
Washington DC/USA
Division of Cosmetics Technology, Food and Drug Administration, 1978
- 6.5 Druckrey H, Preussmann R, Ivankovic S und Schmäl D
"Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten."
Z. Krebsforsch. 69 (1967) 103 - 201
- 6.6 Hilfrich J, Schmeltz I and Hoffmann D
"Effects of NDELA and 1,1-diethanolhydrazine in Syrian golden hamsters."
Cancer Lett. 4 (1977) 55 - 60
- 6.7 Walker R
"Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications."
Food Addit. Contam. 7 (1990) 717 - 768
- 6.8 Havery DC and Chou HJ
"Nitrosamines in sunscreens and cosmetic products."
ACS-Symposium Series; 553 (1994) 20 - 33
- 6.9 Hecht SS, Morrison JB and Wenninger JA
"N-nitroso-N-methyldodecylamine and N-nitroso-N-methyltetradecylamine in hair-care products."
Food Chem. Toxicol. 20 (1982) 165 - 169

- 6.10 Spiegelhalder B and Preussmann R
"Contamination of toiletries and cosmetic products with volatile and nonvolatile N-nitroso carcinogens."
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 108 (1984) 160 - 163
- 6.11 Havery DC and Chou HJ
"N-nitrosamines in cosmetic products."
Cosmetics & Toiletries 109 (1994) 53 - 62
- 6.12 Ikeda K and Migliorese KG
"Analysis of nitrosamines in cosmetics"
J. Soc. Cosmet. Chem. 41 (1990) 283 - 333
- 6.13 Douglass ML, Kabacoff BL, Anderson GA and Cheng MC
"The chemistry of nitrosamine formation, inhibition and destruction."
J. Soc. Cosmet. Chem. 29 (1978) 581 - 606
- 6.14 Goeptar AR en Vermeulen NPE
"Amines in kosmetische en farmaceutische preparaten: risico's voor de gezondheid?"
Pharm. Weekbl. 130 (1995) 916 - 924
- 6.15 Rosenberg I
"The CTFA program on nitrosamines - an overview."
CTFA Cosmet. (1981) 30 - 37
- 6.16 Morrison JB, Hecht SS and Wenninger JA
"N-nitroso-N-methyloctadecylamine in hair-care products."
Food Chem. Toxicol. 21 (1983) 69 - 73
- 6.17 Eisenbrand G, Blankart M, Sommer H and Weber B
"N-Nitrosodialkanolamines in cosmetics"
IARC Sci. Publ. 105 (1991) 238 - 241
- 6.18 Sommer H and Eisenbrand G
"A method for the determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics."
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 186 (1988) 235 - 238
- 6.19 Montfort PFE en Groenen PJ
"Onderzoek naar het vóórkomen van N-nitrosodiethanolamine (NDELA), N-nitrosodiisopropanolamine (NDiPLA) en Bronopol in een aantal cosmetica."
Zeist, CIVO-TNO, 1981
Rapport nr. A 81.213/170016

- 6.20 Powell JB
"Minimizing N-nitrosodiethanolamine formation from nitrite and NO₂ in non-aqueous systems."
J. Soc. Cosmet. Chem. 38 (1987) 29 - 42
- 6.21 Schmeltz I and Wenger A
"2-Bromo-2-nitropropane-1,3-diol as a nitrosating agent for diethanolamine: a model study."
Food Cosm. Toxicol. 17 (1979) 105 - 109
- 6.22 Billedeau SM, Heinze TM, Wilkes JG and Thompson HC
"Application of the particle beam interface to high performance liquid chromatography - thermal energy analysis and electron impact mass spectrometry for detection of non-volatile N-nitrosamines."
J. Chromatogr. A 688 (1994) 55 - 65
- 6.23 Havery DC
"Determination of N-nitroso compounds by high-performance liquid chromatography with post column reaction and a thermal energy analyzer."
J. Anal. Toxicol. 14 (1990) 181 - 185
- 6.24 Conboy JJ and Hotchkiss JH
"Photolytic interface for high-performance liquid chromatography - chemiluminescence detection of non-volatile N-nitroso compounds."
Analyst 114 (1989) 155 - 159
- 6.25 Rollmann B, Lombart P, Rondelet J and Mercier M
"Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics by gas chromatography with electron capture detection."
J. Chromatogr. 206 (1981) 158 - 163
- 6.26 Chou HJ, Yates RL and Wenninger JA
"Screening cosmetic products for N-nitroso compounds by chemiluminescent determination of nitric oxide."
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70 (1987) 960 - 963
- 6.27 Fellion Y, Smedt J de and Brudney N
"An HPLC-UV method for the direct evaluation of N-nitrosodiethanolamine in some cosmetic products and raw materials."
IARC Sci. Publ. 31 (1980) 435 - 443
- 6.28 Klein D, Girard AM, Smedt J de, Fellion Y et Debry G
"Analyse de la nitrosodiethanolamine dans les produits de l'industrie cosmetique;"
Food Cosmet. Toxicol. 19 (1981) 233 - 235

- 6.29 Vohra SK and Harrington GW
"Chromatopolarography of N-nitrosamines including determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics products."
Food Cosmet. Toxicol. 19 (1981) 485 - 487
- 6.30 Ho JL, Wisneski HH and Autist RL
"High pressure liquid chromatographic - thermal energy determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products."
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64 (1981) 800 - 804
- 6.31 Black DB, Lawrence RC, Lovering EG and Watson JR
"Gas-liquid-chromatography-thermal-energy-analyser method for N-nitrosodiethanolamine in cosmetics."
J. Assoc. off. Anal. Chem. 64 (1981) 1474 - 1478
- 6.32 Fukuda Y, Morikawa Y and Matsumoto I
"Ion-exchange chromatographic separation of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics."
Anal. Chem. 53 (1981) 2000 - 2003
- 6.33 Fine DH
"HPLC-TEA determination of NDELA and similar compounds in cosmetics."
IARC Sci. Publ. 45 (1983) 309 - 317
- 6.34 Westin JB, Spiegelhalter B, Preussmann R and Shani J
"Assay of suntan lotions for the carcinogenic, non-volatile N-nitrosamine N-nitrosodiethanol-amine."
Cancer Lett. 50 (1990) 157 - 160
- 6.35 Edwards GS, Peng M, Fine DH, Spiegelhalter B and Kann J
"Detection of N-nitrosodiethanolamine in human urine following application of a contaminated cosmetic."
Toxicol. Lett. 4 (1979) 217 - 222
- 6.36 Schwarzenbach R and Schmid JP
"Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics; high-performance liquid chromatography and gas chromatography - mass spectrometry as alternative methods to chemiluminescence detection"
J. Chromatogr. 472 (1989) 231 - 242
- 6.37 Erickson MD, Lakings DB, Drinkwine AD and Spigarelli JL
"Determination of N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in cosmetic ingredients"
J. Soc. Cosmet. Chem. 36 (1985) 223 - 230

- 6.38 Collier SW, Milstein SR and Orth DS
"Quantitative assay of volatile and non-volatile N-nitrosamines by gas chromatography with an electrolytic conductivity detector. I. Method development and assay of N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in creams and lotion."
J. Soc. Cosmet. Chem. 39 (1988) 329 - 346
- 6.39 Schwarzenbach R and Schmid JP
"Die Bestimmung von N-Nitrosodiethanolamine in kosmetischen Produkten und Rohstoffen."
Parfüm. Kosmet 70 (1989) 342 - 350
- 6.40 Issenberg P, Conrad EE, Nielsen JW, Klein DA and Miller SE
"Determination of N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in environmental samples."
IARC Sci. Publ. 57 (1984) 43 - 50
- 6.41 Meyer Th and Powell JB
"Quantitation of the nitrosamine 2-ethylhexyl 4-(N-methyl-N-nitrosamino)benzoate (NMPABAO) in sunscreen products."
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 74 (1991) 766 - 771
- 6.42 Spiegelhalder B and Edwards G
"GC-TEA analysis of N-nitrosodiethanolamine (NDELA)."
Waltham, MA - USA; Thermo Electron Corporation, Analytical Instruments Division, Application Service C1-79
- 6.43 Sommer H, Blankart M and Eisenbrand, G
"Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics and in alkanolamines: results of collaborative studies."
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 189 (1989) 144 - 146
- 6.44 "Rtx[®]-5 Amine Capillary Columns"
Bellefonte (USA), Restek Corporation, 1994
The Restek Advantage, International version, 5 (1994) 1 -3

Bijlage I; blad 1.

Methoden van onderzoek voor de bepaling van NDELA, NDIPLA en NMPABAO in cosmetische producten en hiervoor bestemde grondstoffen.

Verbinding	Cosmetica / grondstof	Monstervoorbewerking	Scheiding / detectie	Referentie
NDELA	di- en triethanolamine, shampoo	oplossen in water	HPLC-UV bij 254 nm; kolom : μ Bondapak C18, afm. 300 x 3,9 mm	6.27
NDELA, NDIPLA	crème, make-up en vochtinbrenger	ethylacetaat en aceton extractie met eventueel een silica kolom clean-up, afdampen en silyleren.	GC-TEA na MSTFA derivatisering; kolom: 3% OV-1, afm. 6 m x 1/8"	6.19
NDELA	crème, gel	mengen met dimethoxypropaan en methyltertiair-butylether, 4 maal petroleumether extractie en 4 maal ethylacetaat extractie. Clean-up over silica kolom, afdampen, heroplossen en derivatiseren	GC-ECD na derivatiseren met thionylchloride en PTFA, kolom: 3% OV-225	6.25
NDELA	gronstoffen, crème, shampoo, schuimbad, vloeibare zeep	water verdampen, oplossen in ethylacetaat, clean-up over silica kolom	HPLC-TEA; kolom: μ Porasil, afm. 300 x 3,9 mm	6.28
NDELA	shampoo, crème	mengen met water, 3 maal chloroform extractie, centrifugeren gevolgd door Sep-Pak C18 clean-up	HPLC-polarografie; kolom: niet vermeld!!	6.29
NDELA	crème, gel	vaste stof extractie m.b.v. Celite, ethylacetaat eluaat indampen gevolgd door 3 maal water extractie en 3 maal aceton. Afdampen tot droog en heroplossen in aceton.	HPLC-TEA; kolom: Partisil 10 PAC, afm. 250 x 4,6 mm. GC-MS bevestiging na silyleren met BSTFA	6.30
NDELA	"cosmetica"	waterige oplossing extraheren met dichloorethaan, centrifugeren, clean-up waterige fase via Clin-Elut en silica kolom. Afdampen tot droog en derivatiseren.	GC-TEA na BSA derivatisering; kolom: 3% OV-225, afm. 3,05 m x 4,0 mm	6.31
NDELA	crème, lotion, shampoo	mengen met ethanol, clean-up over een anionen- en kationenwisselaar kolom. Oplosmiddel afdampen en residue oplossen in ethanol / isoocetaan (1 + 9)	HPLC-TEA; kolom: Sorbax SIL, afm. 250 x 4,6 mm	6.32
NDELA	"cosmetica"	extractie afhankelijk van matrix -> vast: aceton; waterig: aceton en ethylacetaat; anders: aceton verdunning	HPLC-TEA; kolom: LiChrosorb NH ₂ , afm. 250 x 4,6 mm	6.33
NDELA, NDIPLA	lotion, zonnecrème, shampoo, gel, badschuim	mengen met water extractie via Extrelut kolom, clean-up over silica kolom. Oplosmiddel afdampen, silyleren	GC-TEA na MSHFBA derivatisering; kolom: 6% OV-275, afm. 3 m x 2 mm	6.18
NDELA	zonnecrème, lotion	mengen met water, extractie over 3 kolommen: Extrelut, silicagel en een reversed-phase diol kolom, concentreren tot droog en silyleren.	GC-TEA na MSHFBA derivatisering; kolom: niet vermeld!!	6.34

Bijlage I; blad 2.

Methoden van onderzoek voor de bepaling van NDELA, NDiPLA en NMPABAO in cosmetische produkten en hiervoor bestemde grondstoffen.

Verbinding	Cosmetica / grondstof	Monstervoorbewerking	Scheiding / detectie	Referentie
NDELA	lotion, shampoo, "cosmetica"	mengen met ethylacetaat gevolgd door silica kolom clean-up, aceton eluaat concentreren	HPLC-TEA; kolom: μ Porasil, afmetingen niet vermeld!!	6.3
NDELA	crème	schudden met ethylacetaat/diethylether/aceton oplossing	GC-TEA GEEN derivatisering; kolom: 3% OV-225, afm. 2m x 6 mm (uitw)	6.35
NDELA	shampoo, crème, lotion, badschuim, gel, toner	mengen met ethanol, clean-up over een anionen- en kationenwisselaar kolom.	GC-TEA na MSHFBA derivatisering; kolom: 6% OV-275, afm. 120 cm x 2,2 mm	6.10
NDELA, NDiPLA	lotion, (zonne)crème, shampoo, badschuim, deodorant	mengen met water, extractie over Extrelut kolom, clean-up over silica kolom.	GC-TEA na MSHFBA derivatisering; kolom: niet vermeld, zie ook ref. 6.18 en 6.43	6.17
NDELA	"cosmetica" en grondstoffen	mengen met water, extractie over Extrelut kolom, clean-up over silica kolom.	HPLC-UV bij 254 nm; kolom: LiChrosorb RP18, afm. 250 x 3 mm. GC-MS na derivatiseren met MSTFA of t-BuDMCS; kolom: SE-30, afm. 28 m x 0,3 mm	6.36
NDELA	mono-, di- en triethanolamine, quats	mengen met ethylacetaat, extractie over silica kolom.	HPLC-TEA en UV bij 254 nm; kolom: Spherisorb CN, afm. 250 x 4,6 mm.	6.37
NDELA	crème, lotion	mengen met dichloorethaan, centrifugeren, extractie over Extrelut kolom, 3 maal methylethylketon extractie, clean-up over Sep-Pak. Afdampen tot droog en derivatiseren.	GC-ELCD na derivatiseren met Ac2O of BSTFA; kolom: 3% OV-17, afm. 2 m x 2 mm.	6.38
NDELA	"cosmetica" en grondstoffen	mengen met water, extractie over Extrelut kolom, clean-up over silica kolom.	HPLC-UV bij 254 nm; kolom: LiChrosorb RP18, afm. 250 x 3 mm. Bevestiging: GC-MS na derivatiseren	6.39
NDELA, NDiPLA	di- en triisopropanolamine	mengen met sulfaminezuur-oplossing, extractie over Celite 560 kolom en concentreren.	GC-TEA en GC-MS na t-BDMCS derivatiseren; kolom: 1% Carbowax 20M-TPA, afm. 2 m x 2 mm	6.40
NDELA, NMPABAO	crème, lotion	mengen met keukenzout en hexaan, centrifugeren, oplosmiddel afdampen, residu opnemen in acetonitril en centrifugeren	HPLC-TEA en HPLC-MS beide met "particle beam" koppeling	6.22
NMPABAO	zonne crème, lotion, gel	mengen met keukenzout en hexaan, centrifugeren	HPLC-TEA; kolom: μ Bondapak CN. Twee kolommen in serie: afm. 300 x 3,9 mm en 250 x 4,6 mm	6.41

Bijlage II.

Overzicht van afkortingen frequent gebruikt voor instellingen, detectoren, scheidings- en detectietechnieken en chemische verbindingen

Afkorting	Volledige naam in de oorspronkelijke taal
ACS	American Chemical Society (USA)
Ac ₂ O	Acetic acid anhydride
t-BuDMCS	tertiair-butyldimethylchlorosilane
Bronidox	5-bromo-5-nitro-1,3-dioxaan
Bronopol	2-bromo-2-nitropropaan-1,3-diol
BSA	N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide
BSTFA	N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide
CA	Chemical Abstracts
CAS	Chemical Abstracts Service
CTFA	Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (USA)
ECD	Electron Capture Detector
ELCD	Electrolytic Conductivity Detector
EU	Europese Unie
FDA	Food and Drug Administration (USA)
GC	Gas Chromatography
HIGB	Hoofinspectie Gezondheidsbescherming
HPLC	High Performance Liquid Chromatography or High Pressure Liquid Chromatography
IARC	International Agency for Research on Cancer (France)
IGB	Inspectie Gezondheidsbescherming
MAP	Meerjaren Activiteiten Programma
MS	Mass Spectrometry
MBTFA	N-methylbistrifluoroacetamide
MSHFBA	N-methyl-N-trimethylsilylheptafluorobutyramide
MSTFA	N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide
NA	N-nitrosamine
NDAA	N-nitrosodialkanolamine
NDBA	N-nitrosodi-n-butylamine
NDEA	N-nitrosodiethylamine
NDELA	N-nitrosodiethanolamine
NDiPLA	N-nitrosodiisopropanolamine
NDMA	N-nitrosodimethylamine
NDPA	N-nitrosodi-n-propylamine
NMDDA	N-nitroso-N-methyldodecylamine
NMODA	N-nitroso-N-methyloctadecylamine
NMOR	N-nitrosomorpholine
NMPABAO	2-ethylhexyl 4-(N-nitroso-N-methylamino)benzoate
NMTDA	N-nitroso-N-methyltetradecylamine
Padimate O	2-ethylhexyl 4-(N,N-dimethylamino)benzoate
PTFA	Peroxitrifluoroacetic acid
TEA	Thermal Energy Analyzer
UV	Ultraviolet (light / detection)
VIS	Visible (light / detection)