

# Furocoumarine: Phototoxische Substanzen in nicht reglementierten kosmetischen Mitteln

Alexander Maximilian Voigt\* und Sebastian Freff

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Rheinland AöR Winterstraße 19, 50354 Hürth

## HINTERGRUND

Bei Furocoumarinen (FC) handelt es sich um sekundäre Pflanzenstoffe, die zum Schutz vor Insekten oder mikrobiellem Befall von diversen Pflanzenarten, insbesondere Zitrusarten, gebildet werden. Von besonderer Bedeutung sind Vertreter dieser Substanzklassen aufgrund ihres phototoxischen Potentials [1-2].

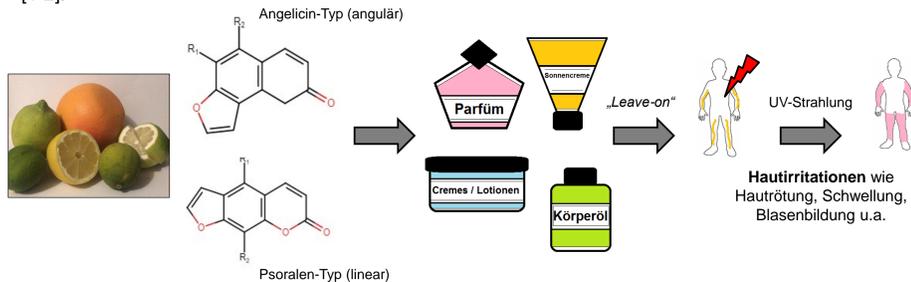


Abbildung 1 Graphische Darstellung der Furocoumarin-Exposition durch kosmetische Mittel

Aufgrund der gesundheitsschädlichen Eigenschaften sind FC in kosmetischen Mitteln (KM) gemäß der VO (EG) Nr. 1223/2009, mit Ausnahme der natürlicherweise in ätherischen Ölen vorkommenden Gehalte, verboten. Ferner gilt für Sonnenschutzmittel und Bräunungsmittel ein Summengrenzwert von 1 mg/kg. Gesondert geregelt ist Imperatorin, welches in KM als Einzelstoff verboten ist. Rechtlich nicht geregelt, dennoch von Interesse, ist der Gehalt an FC in anderen „Leave-on“-Produkten, sofern diese auf Hautpartien aufgetragen werden, die einer unmittelbaren Sonneneinstrahlung unterliegen. In diesem Zusammenhang schlug das *Scientific Committee on Consumer Products* (SCCP) bereits 2005 vor, dass der Gesamtgehalt an FC generell in KM 1 mg/kg nicht überschreiten sollte [3].

Offen hingegen blieb die Frage, welche Zielanalyten zur Summengrenzwertbetrachtung herangezogen werden sollten, da eine Vielzahl an unterschiedlichen Verbindungen mit variierenden phototoxischen Eigenschaften vorkommt. Ein erster Vorschlag bezüglich einer solchen Priorisierung erfolgte 2007 von der *International Fragrance Association* (IFRA) durch die Nennung von sechs Markerverbindungen [1].

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Körperölen auf 17 verschiedene FC mittels LC-MS/MS.

## MATERIAL UND METHODIK

### Probenvorbereitung

- 0,2 g Probe + 5 mL Isopropanol → *Ultrasound assisted extraction* (UAE, 5 min)
- Filtration mittels Spritzenvorsatzfilter (PET, 0,25 µm Porenweite) → Injektion (3 µL)

### HPLC-MS/MS

- Nucleodur® Sphinx RP (150 mm x 3 mm x 3 µm, Macherey & Nagel)
- LC-APCI(+)-MS/MS-Kopplung [Nexera XR LC-20AD (Shimadzu) x QTrap 4500 (AB Sciex)] → sMRM-Modus

### LC-Gradient

- Eluent A: Wasser (+ 0,1% HCOOH) - Eluent B: Methanol, Fluss: 0,5 mL/min
- 3 min → 20 min (B: 40% → 85%); 20 min → 20,5 min (B: 85% → 95%); bis 23 min (B: 95%); 23 min → 23,5 min (B: 95% → 40%); 23,5 min → 29 min (B: 40%)

## ERGEBNISSE & DISKUSSION

- Messtechnische Herausforderung durch **Vielzahl an Stellungsisomeren** → chromatographisch ähnliches Verhalten bei gleichen Fragmentierungsmustern

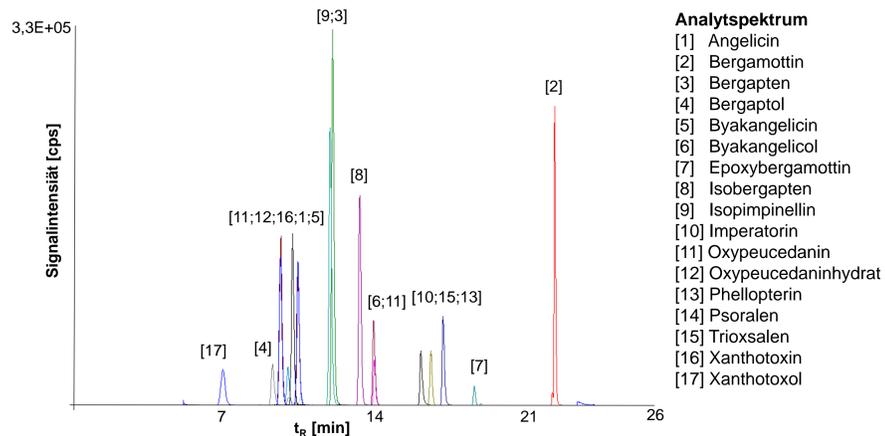


Abbildung 2 XIC der 17 untersuchten Furocoumarine in Matrixstandard (25 µg/L, Blank-Körperöl)

- Umlagerung von Referenzsubstanzen → Gefahr falsch positiver/negativer Befunden z.B. bei Byakangelicol/Byakangelicin oder Oxypeucedanin-hydrat

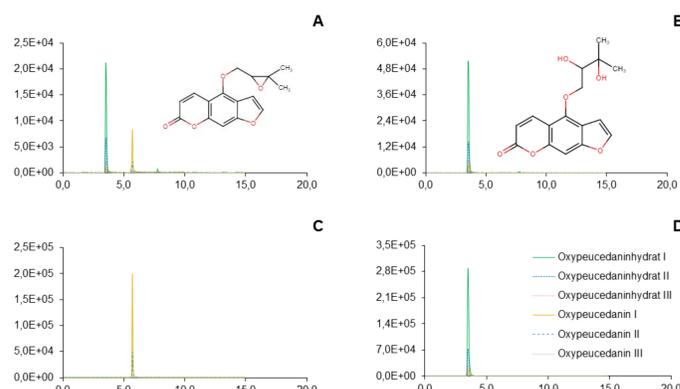


Abbildung 3 Diol-Bildung durch Ringöffnung des Epoxids am Beispiel von Einzelstandards an Oxypeucedanin (A: in Wasser; C: in 2-Propanol) und Oxypeucedaninhydrat (B: in Wasser; D: in 2-Propanol)

- **Cave: In-Source-Fragmentierungen** in APCI (z.B. bei Imperatorin, Phellopterin) → z.T. intensivste Vorläufer-Ionen ≠ [M+H]<sup>+</sup>
- Verfahrenskenndaten: *Matrix-matched* Kalibration (Haarwässer, Körperöle, Sonnencremes, Parfüms)
  - Wiederholstandardabweichung = 0,48% - 8,13%
  - Wiederfindung = 83% bis 111%
  - Linearität = 50 µg/kg – 2.500 µg/kg ( $r^2 \geq 0,9990$ )
  - Erweiterte Messunsicherheit ( $k = 2$ , 95%, Nordtest) = 6% bis 40% je nach Analyt und Matrix

Analyt	Maximalgehalt [µg/kg]	Anzahl pos. Proben (> LOQ) [%]	Marker nach IFRA 2007 [1]
Bergamottin	61.200	31	Ja
Bergapten	839	27	Ja
Bergaptol	<LOQ	0	Nein
Byakangelicin	4.720	18	Nein
Byakangelicol	11.600	17	Ja
Epoxybergamottin	1.490	4	Ja
Isopimpinellin	628	28	Ja
Imperatorin	645	11	Nein
Oxypeucedanin	1.8500	26	Ja
Oxypeucedaninhydrat	8.660	23	Nein
Phellopterin	3.020	15	Nein
Xanthotoxol	<LOQ	0	Nein
<b>TFC</b>	<b>105 mg/kg</b>	<b>31%</b>	

Tabelle 1 Überblick der untersuchten Körperöle (n = 29) bzgl. der nachgewiesenen Gehalte an Furocoumarinen (TFC = Total Furocoumarin content [mg/kg]; LOD = 50 µg/kg; LOQ = 125 µg/kg)

- Keine der Bergapten-positiven Proben (27%) überschritten den von der IFRA vorgeschlagenen Grenzwert von 15 ppm im Endprodukt [4]
- Positiver Nachweis von Imperatorin in 11% der Proben
  - Abschätzung einer technisch vermeidbaren Konzentration (Wasserdampfdestillation vs. Kaltpressung)
  - Sicherheitsbewertung durch die verantwortliche Person gemäß VO (EG) Nr. 1223/2009

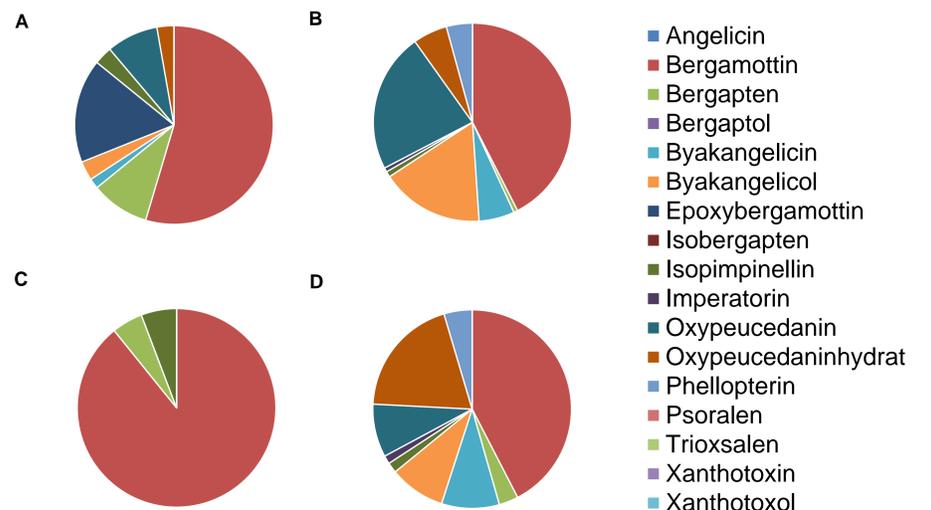


Abbildung 4 Relative Zusammensetzung des Furocoumarinspektrums auffälliger Realproben (A: Orangenöl zur Herstellung von Kosmetika; B: Mandel-Zitrus-Körperöl; C: Zitrus-Körperöl; D: Zitrus-Rosmarin Körperöl)

## FAZIT & AUSBLICK

- Eine Vielzahl an Furocoumarinen konnte in den untersuchten Körperölen nachgewiesen werden
  - Maximal 10 verschiedene Substanzen in einer Probe
  - Zukünftigen Probenfokus auf zitrusöhlhaltige Kosmetika legen
- Weitere toxikologische Bewertung für nicht reglementierte „Leave-on“-Produkte sinnvoll
  - Erweiterung des Analytspektrums notwendig?
- Vergleich der Ionisationstechniken: ESI versus APCI
  - *In-Source*-Fragmentierungen vs. Matrixeffekte
- Bedarf an isotope-markierten Standards zur weiteren Ergebnisabsicherung
  - Aktuell nicht käuflich erwerbbar!

## REFERENZEN

- [1] Kreidl M et al. (2020) *Analytica Chimica Acta* **1101**: 211-221
- [2] Melough MM et al. (2018) *Food and Chemical Toxicology* **113**: 99-107
- [3] SCCP/0942/05 (2005) Opinion on Furanocoumarins in cosmetic products
- [4] IFRA Standard—Citrus oils and other furocoumarins containing essential oils (10. Juni, 2015)

