

Nitrosamine in Spielzeug – Bestimmung mittels LC-MS/MS

Dr. Clemens Bidmon, TÜV Rheinland LGA Products GmbH

Nitrosamine in Spielzeug

Europäische Spielzeugrichtlinie 2009/48/EC




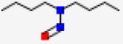
8. Without prejudice to the application of points 3 and 4, nitrosamines and nitrosable substances shall be prohibited for use in toys intended for use by children under 36 months or in other toys intended to be placed in the mouth if the migration of the substances is equal to or higher than 0,05 mg/kg for nitrosamines and 1 mg/kg for nitrosable substances.

- N-Nitrosamine und N-nitrosierbare Verbindungen
- Spielzeug für Kinder unter 36 Monaten
- Spielzeug das bestimmungsgemäß in den Mund genommen werden soll
- Migration
- Grenzwerte werden festgelegt:
N-Nitrosamine (Summe) 0,05 mg/kg; N-nitrosierbare Verbindungen 1 mg/kg

Nitrosamine in Spielzeug

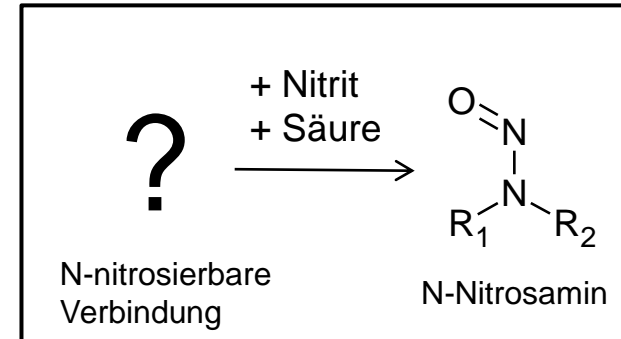
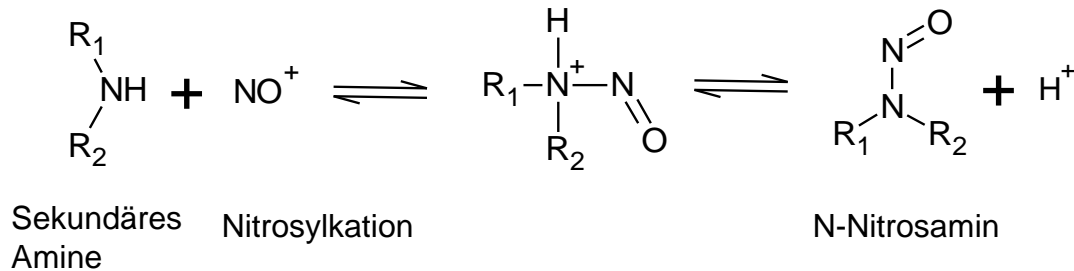
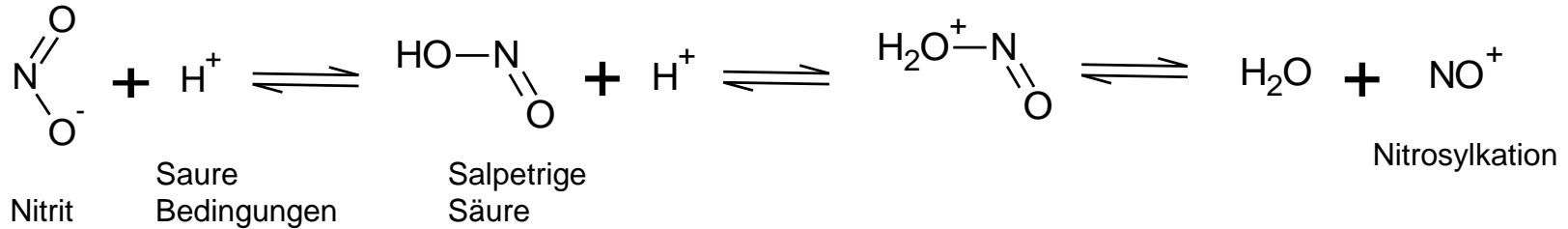
Die meisten Nitrosamine sind als kanzerogen eingestuft

SCCP, Opinion on the Presence and Release of Nitrosamines and Nitrosatable Compounds from Rubber Balloons, 18.12.2007

Abbrev.	Full name	CAS-number	Formula*	Structure*	IARC/ EU classification
NDELA	N-nitroso diethanol amine	1116-54-7	$C_4H_{10}N_2O_3$		2B / 2
NDMA	N-nitroso dimethyl amine	62-75-9	$C_2H_6N_2O$		2A / 2
NDEA	N-nitrosodi-ethylamine	55-18-5	$C_4H_{10}N_2O$		2A
NDBA	N-nitrosodi-n-butylamine	924-16-3	$C_8H_{18}N_2O$		2B

Nitrosamine in Spielzeug

Was sind N-Nitrosamine und N-nitrosierbare Verbindungen und wie entstehen sie?

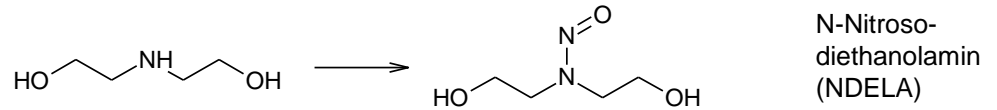


Nach: A. Streitwieser, C.H. Heathcock, E.M.Kosower; Organische Chemie; Zweite Auflage, Seite 765-766, VCH Verlagsgesellschaft mbH 1994

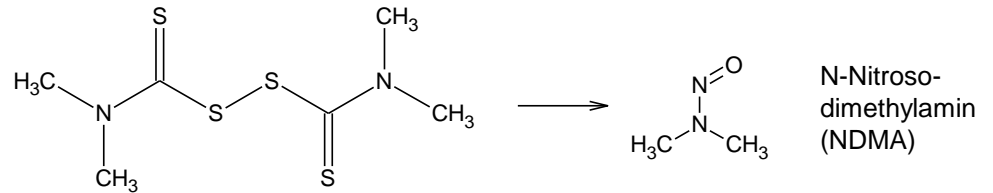
Nitrosamine in Spielzeug

Wie entstehen Nitrosamine in Spielzeugmaterialien?

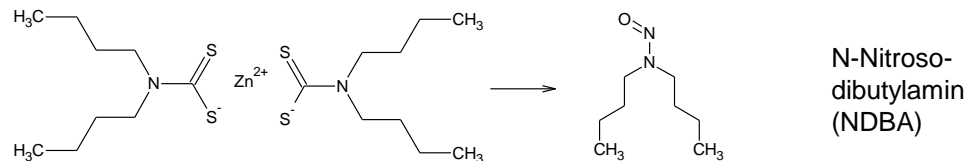
- Alkanolamine,
z.B. das Diethanolamin (Fingerfarben,
Kosmetik)



- Konservierungsstoffe für Naturlatex,
z.B. das Tetramethylthiuramdisulfid (TMTD)

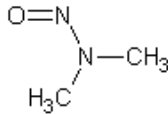


- Vulkanisationsbeschleuniger,
z.B. Dithiocarbamate wie das
Zinkdibutyldithiocarbamat (ZDBC)

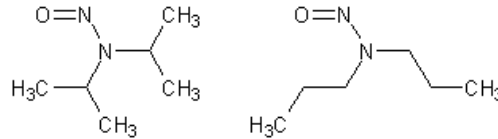


Nitrosamine in Spielzeug

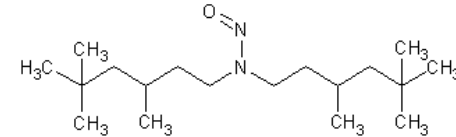
Einige derzeit bekannte technisch relevante N-Nitrosamine in elastomeren Spielzeugmaterialien



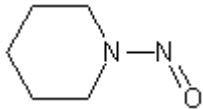
N-Nitrosodimethylamin
(NDMA)



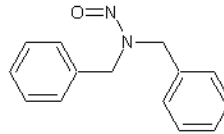
N-Nitrosodi(iso)propylamin
NDiPA / NDPA



N-Nitrosodiisononylamin
NDiNA



N-Nitrosopiperidin
(NPip)




N-Nitrosodibenzylamin
(NDBzA)

N-Nitrosodiethylamin, NDEA
N-Nitrosodi(iso)butylamin, NDPA/NDiBA
N-Nitrosomorpholin, NMor
N-Nitrosodimethylphenylamin, NDMPPhA
N-Nitrosodiethylphenylamin, NDEPhA

Nitrosamine in Spielzeug

Erarbeitung einer europäischen Norm zur Prüfung auf Nitrosamine in Spielzeug

- Fingerfarben
- Elastomere Spielzeugmaterialien: Luftballons und andere elastomere Spielzeuge
- Fingerfarben werden wässrig extrahiert
- Elastomere werden mit nitrithaltiger Speichelprüflösung migriert
- Bestimmung der N-nitrosierbaren Verbindungen nach “Nitrosierung” des Migrats
- Bestimmung der N-Nitrosamine mittels LC-MS/MS

DEUTSCHE NORM		März 2017
	DIN EN 71-12	
ICS 97.200.50		Ersatz für DIN EN 71-12:2013-07
Sicherheit von Spielzeug - Teil 12: N-Nitrosamine und N-nitrosierbare Stoffe; Deutsche Fassung EN 71-12:2016		

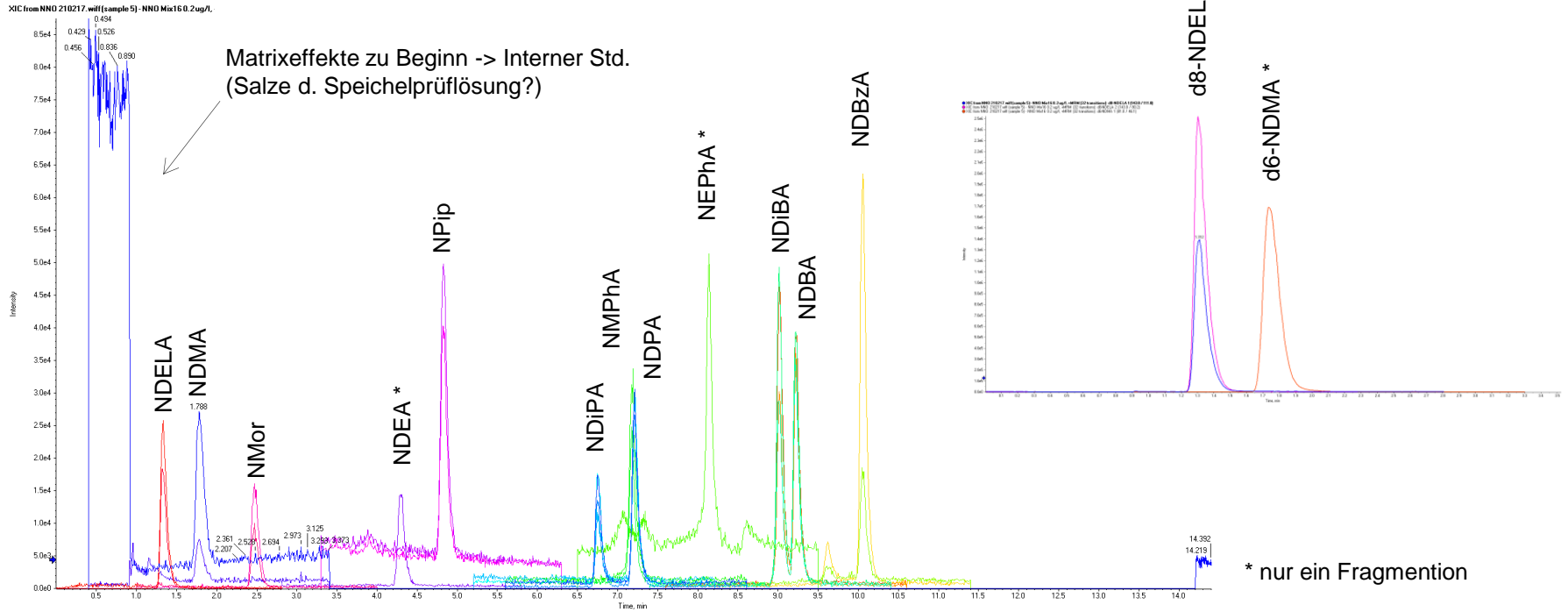
Nitrosamine in Spielzeug

Bestimmung mit LC-MS/MS beim TÜV Rheinland nach DIN EN 71-12

- Agilent 1290 Infinity I (mit DAD) + Sciex 5500 QTRAP
- Macherey und Nagel Nucleodur C18 Sphinx
- Gradientenelution mit Ameisensäurem Wasser und Ameisensäurem Methanol
- Injektion 40 µl
- Ionisierung mittels APCI positiv
- Detektion im sMRM mit zwei Fragmentationen (außer NDEA und NEPhA)
- Bestätigungsanalyse mittels UV-Bestrahlung der Migrante
- Arbeitsbereich von 0,2 bis 50 µg/l (0,002 bis 0,5 mg/kg)

Nitrosamine in Spielzeug

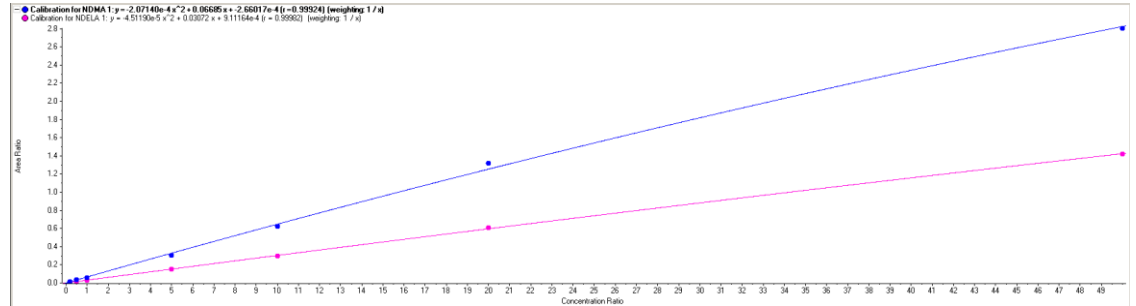
0,2 µg/l N-Nitrosamine in Speichelprüflösung (sMRM)



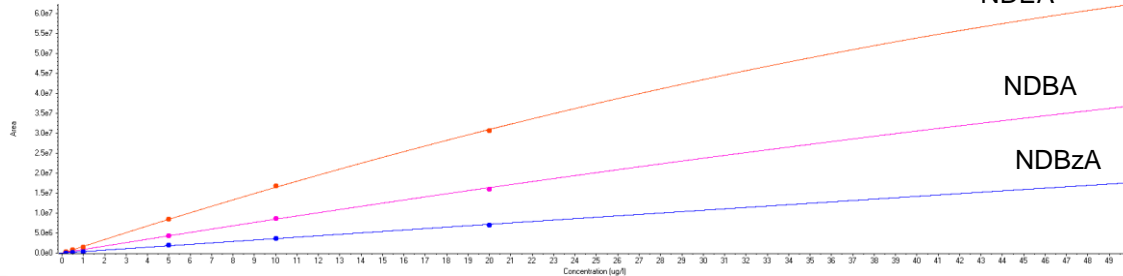
Nitrosamine in Spielzeug

7-Punkt- Kalibrierung

NDELA und NDMA
mit internem Standard,
Accuracy von 90 bis 110 %



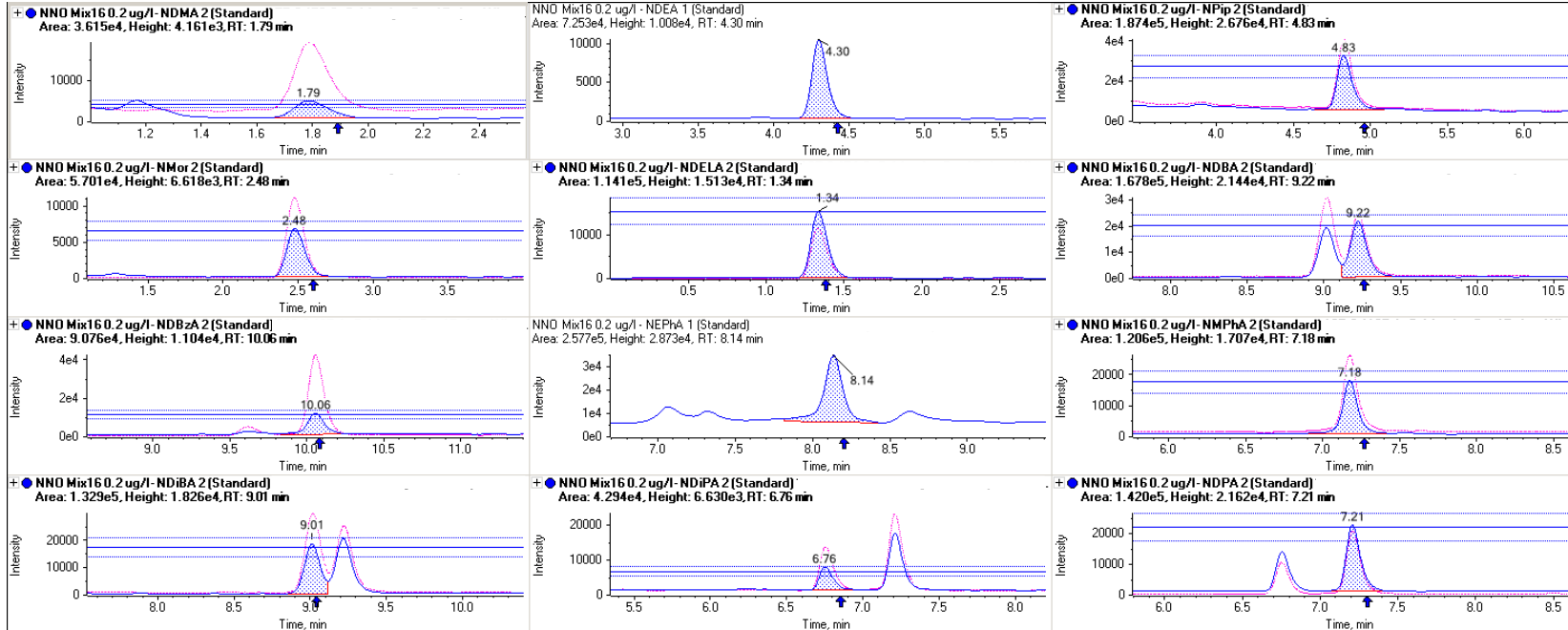
● Calibration for NDEA $1 \cdot y = 245.54622 \cdot x^2 + 3.65949e5 \cdot x + 5970.93235$ ($r = 0.99973$) (weighing: 1 / x)
● Calibration for NDBA $1 \cdot y = 2743.44521 \cdot x^2 + 8.74259e5 \cdot x + 19223.8527$ ($r = 0.99983$) (weighing: 1 / x)
● Calibration for NDBzA $1 \cdot y = 10102.44507 \cdot x^2 + 1.75719e6 \cdot x + 7.38276e4$ ($r = 0.99989$) (weighing: 1 / x)



Alle anderen mit externer Kalibrierung,
Accuracy von 90 bis 110 %,
Peakflächen von $2e5$ bis $6e7$

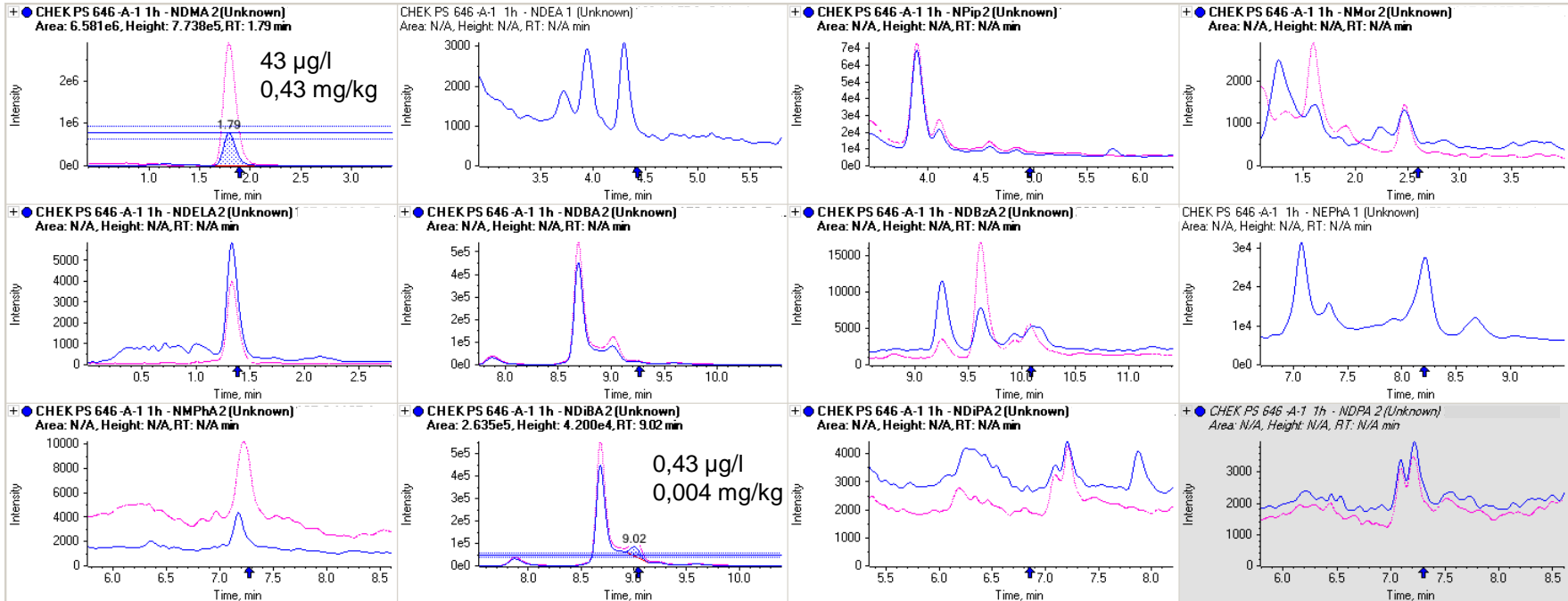
Nitrosamine in Spielzeug

LOQ: 0,2 µg/l Speichelprüflösung = 2 µg/kg Spielzeugmaterial



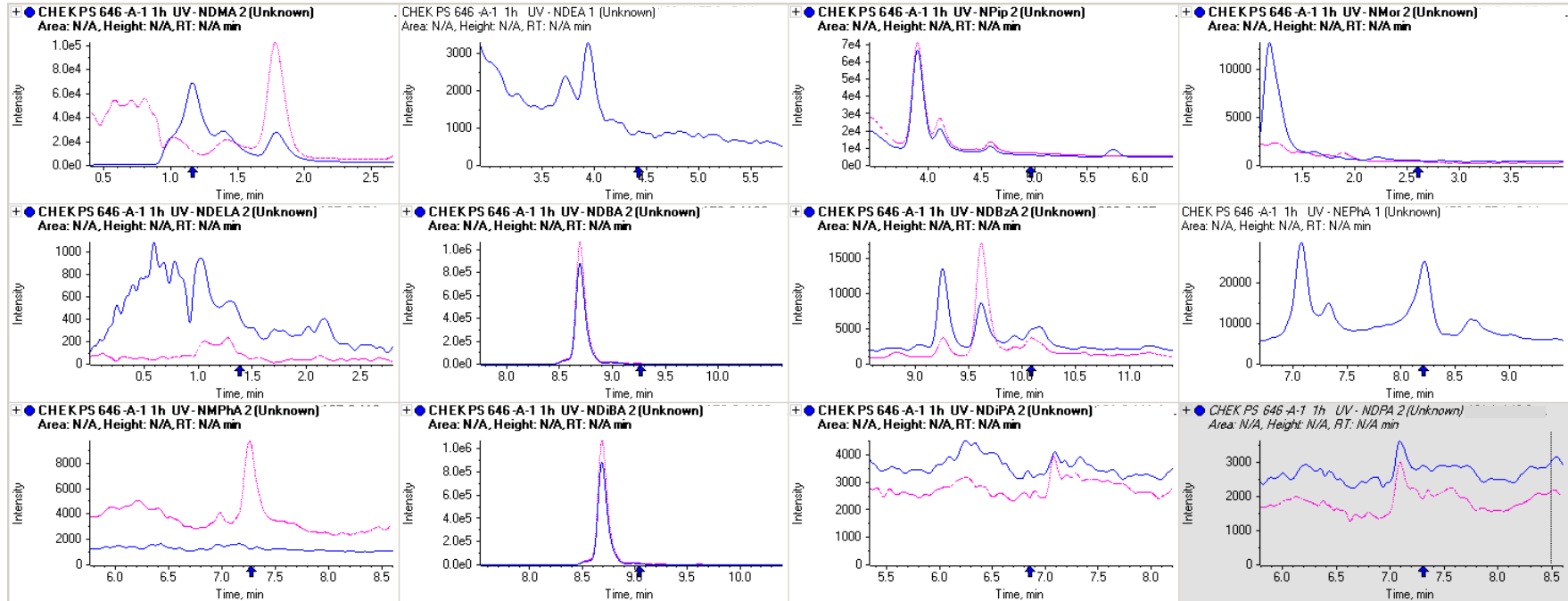
Nitrosamine in Spielzeug

Luftballon, Migration mit Speichelprüflsg.



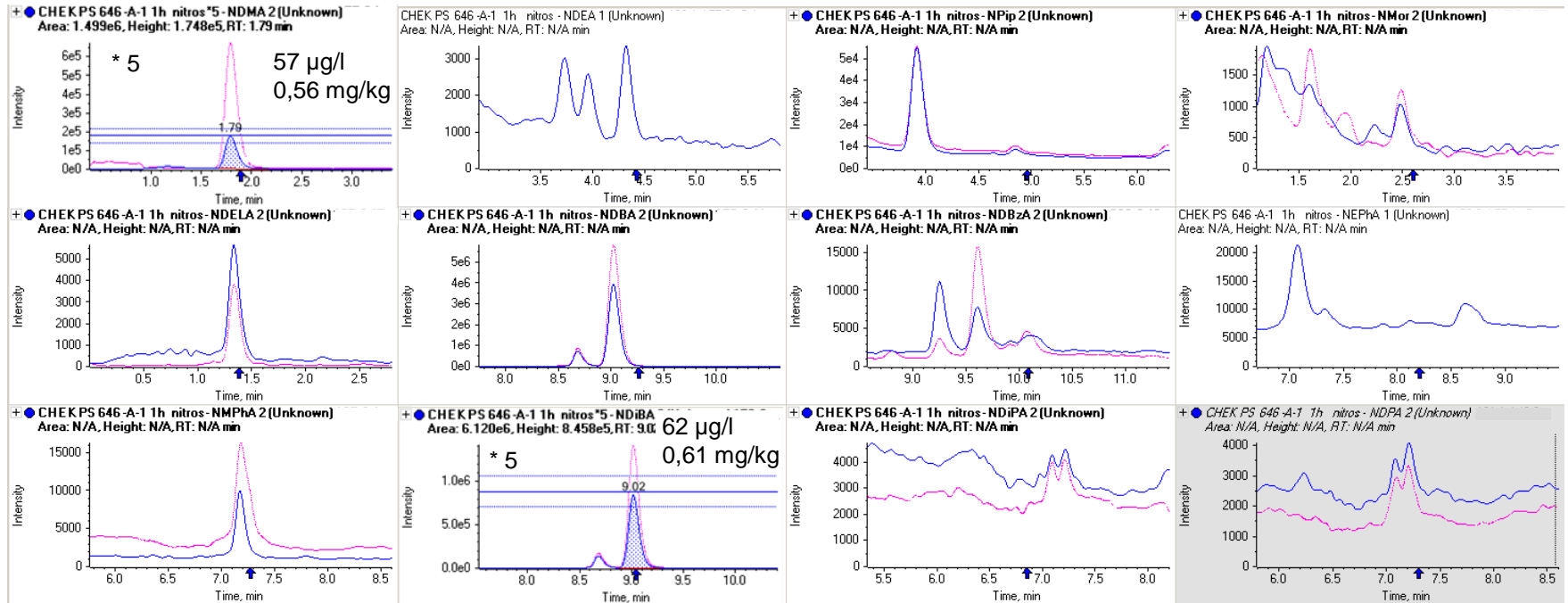
Nitrosamine in Spielzeug

Luftballon, Migration mit Speichelprüflsg., UV-Bestrahlung



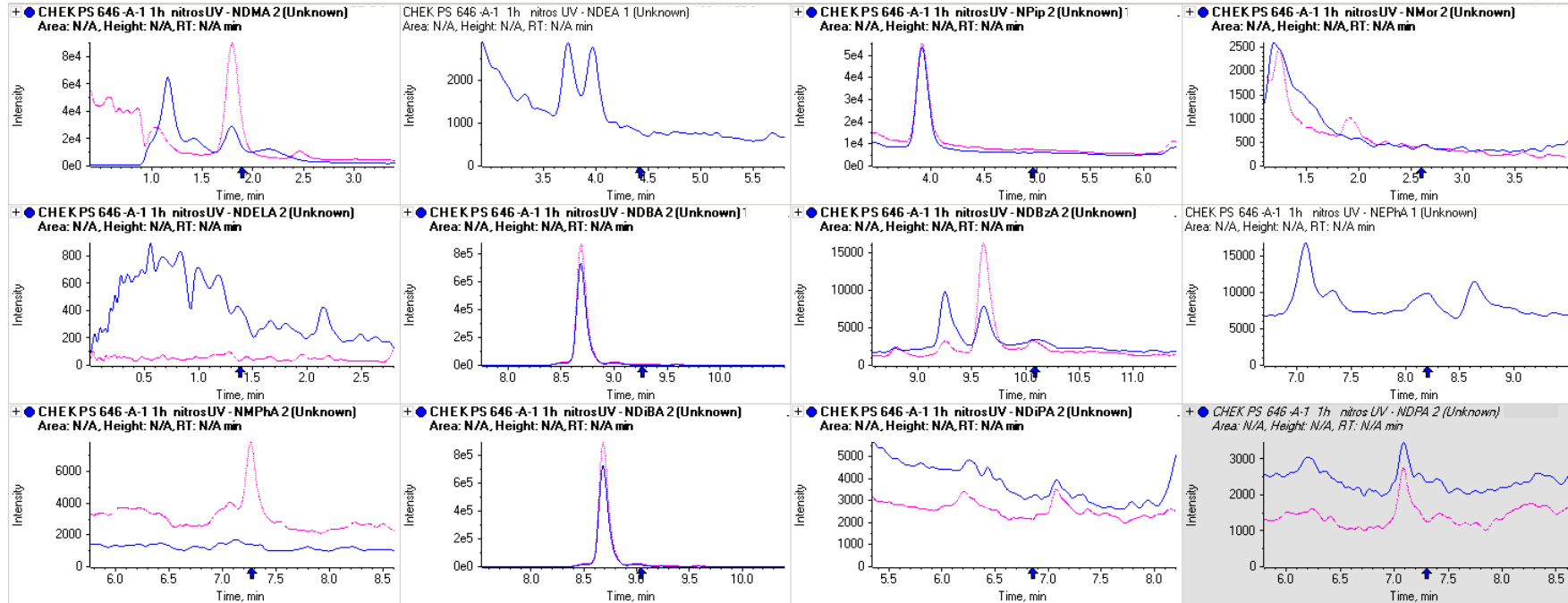
Nitrosamine in Spielzeug

Luftballon, Migration mit Speichelprüflsg., Nitrosierung



Nitrosamine in Spielzeug

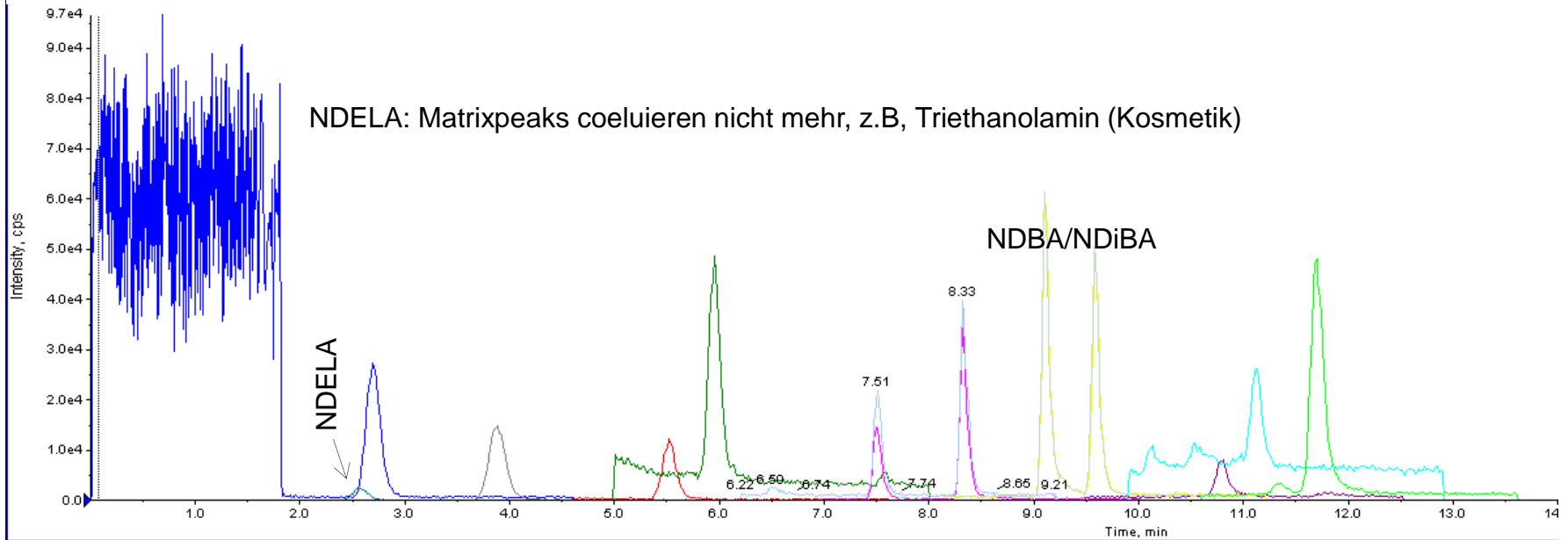
Luftballon, Migration mit Speichelprüflsg., Nitrosierung, UV-Bestrahlung



Nitrosamine in Spielzeug

Einige bekannte Matrixprobleme können chromatographisch gelöst werden

Thermo Scientific HyperCarb 100 x 2.1, 5µm



Nitrosamine in Spielzeug

Vorteile der Methode

- Direkte Injektion der Speicheltestlösung möglich; hohes Einspritzvolumen möglich
- Keine Anreicherung durch hohe Empfindlichkeit der MS/MS nötig
- sMRM (alle Verbindungen mit ausreichend Datenpunkte, nicht relevante Matrixpeaks werden nicht detektiert, Zeitfenster für Isomere kann größer gemacht werden)
- Sicheres Identifizieren (MS/MS + Bestrahlung)
- Auswertung von langen Sequenzen und Peak Review mit MultiQuant
- Alle bisher relevanten Nitrosamine konnte ohne Derivatisierung (wie z.B. für NDELA mit GC nötig) und in einem Lauf bestimmt werden

Nitrosamine in Spielzeug

Herausforderungen:

- „Sauberere“ Chromatogramme, Reduzierung von Matrixstörungen:
 - ? MRM³, Problem: nur sehr kleine und wenige Primär-Fragmentationen
 - ? hrMS
 - ? Selexlon
- Niedrigere LOQs/Arbeitsbereich:
 - ? Sciex 6500 QT
 - ? Einspritzvolumen noch weiter erhöhen
 - ? Größerer linearer Bereich
- Mehr Sicherheit bei der Identifizierung und Identifizierung noch unbekannter Nitrosamine:
 - ? hrMS (evtl. dann keine UV-Bestrahlung mehr nötig?)

Nitrosamine in Spielzeug

Andere Bedarfsgegenstände

- NDELA in Kosmetik (ISO 15819)

Methode vergleichbar zu den Fingerfarben

- Lebensmittelbedarfsgegenständen aus Gummi (BfR Empfehlung XXI)

Methode analog zu den elastomeren Spielzeugen, Migration mit wässrigen Prüflebensmitteln, keine Nitrosierung (keine N-nitrosierbaren Verbindungen)

Vielen Dank für die Aufmerksamkeit!

??? Fragen ???