

	Sicherheit von Spielzeug Teil 11: Organisch-chemische Verbindungen — Analysenverfahren Deutsche Fassung prEN 71-11:2003	DIN EN 71-11
ICS 97.200.50	Entwurf Safety of toys — Part 11: Organic chemical compounds — Methods of analysis; German version prEN 71-11:2003 Anwendungswarnvermerk Dieser Norm-Entwurf wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren. Stellungnahmen werden erbeten — vorzugsweise als Datei per E-Mail an nagd@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter http://www.din.de/stellungnahme abgerufen werden; — oder in Papierform an den Normenausschuss Gebrauchstauglichkeit und Dienstleistungen (NAGD) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin) Nationales Vorwort Dieses Dokument prEN 71-11 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 52 „Sicherheit von Spielzeug“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DS gehalten wird. Der zuständige deutsche Arbeitsausschuss ist der Arbeitsausschuss UA 2.1.14 „Organisch-chemische Substanzen in Spielzeug“ im Normenausschuss Gebrauchstauglichkeit und Dienstleistungen (NAGD) im DIN. Dieser Teil der EN 71 sollte in Verbindung mit Teil 9 (Anforderungen) und Teil 10 (Probenvorbereitung und Extraktion) gelesen werden. Diese Norm beschreibt Analysenverfahren, mit denen die Übereinstimmung mit den in EN 71-9 festgelegten chemischen Anforderungen bewertet werden kann, wenn die Spielzeug- und Spielzeugmaterial-extrakte entsprechend den Probenahmeverfahren nach EN 71-10 hergestellt wurden. Fortsetzung 56 Seiten prEN Normenausschuss Gebrauchstauglichkeit und Dienstleistungen (NAGD) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.	Einsprüche bis 2003-11-30

— *Entwurf* —

— Leerseite —

Sicherheit von Spielzeug — Teil 11: Organisch-chemische Verbindungen — Analyseverfahren

Safety of toys — Part 11: Organic chemical compounds — Methods of analysis

ICS:

Deskriptoren

Inhalt

Seite

Vorwort.....	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe.....	6
4 Umweltschutz-, Gesundheitsschutz- und Sicherheitsmaßnahmen	6
5 Analysenverfahren	7
5.1 Flammenschutzmittel.....	7
5.1.1 Kurzbeschreibung.....	7
5.1.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel	7
5.1.3 Geräte	8
5.1.4 Durchführung	8
5.1.5 Bestimmung.....	8
5.1.6 Qualitativer Nachweis	8
5.1.7 Berechnung der Analytkonzentration	9
5.1.8 Validierung und Präzision	9
5.2 Farbmittel	9
5.2.1 Kurzbeschreibung.....	9
5.2.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel	9
5.2.3 Standardlösungen.....	11
5.2.4 Geräte	12
5.2.5 Durchführung	13
5.2.6 Qualitativer Nachweis	13
5.2.7 Berechnung der Analytkonzentration	13
5.2.8 Validierung und Präzision	13
5.2.9 Zusätzliche Angaben	14
5.3 Primäre aromatische Amine.....	15
5.3.1 Kurzbeschreibung.....	15
5.3.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel	15
5.3.3 Geräte	16
5.3.4 Durchführung	17
5.3.5 Berechnung der Analytkonzentration	17
5.3.6 Validierung und Präzision	18
5.3.7 Zusätzliche Angaben	18
5.4 Monomere und Lösemittel	18
5.4.1 Hochleistungsflüssigchromatographie - Verfahren 1 (HPLC 1)	18
5.4.2 Hochleistungsflüssigchromatographie - Verfahren 2 (HPLC 2)	20
5.4.3 Headspace-GC/ECD - Verfahren 3 (HS-GC-ECD)	21
5.4.4 Headspace-Gaschromatographie/MSD - Verfahren 4 (HS-GC/MSD)	23
5.4.5 Festphasenextraktion, Gaschromatographie/MSD - Verfahren 5 (SPE, GC/MSD)	26
5.5 Holzschutzmittel.....	30
5.5.1 Kurzbeschreibung.....	30
5.5.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel	30
5.5.3 Standardlösungen.....	31
5.5.4 Geräte	31
5.5.5 Durchführung	32
5.5.6 Berechnung der Analytkonzentration	33
5.5.7 Validierung und Präzision	33
5.6 Konservierungsstoffe	33
5.6.1 Kurzbeschreibung.....	33
5.6.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel	34

	Seite
5.6.3 Standardlösungen	34
5.6.4 Geräte	34
5.6.5 Durchführung	35
5.6.6 Berechnung der Analytkonzentration.....	35
5.6.7 Validierung und Präzision.....	36
5.7 Weichmacher.....	36
5.7.1 Kurzbeschreibung	36
5.7.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel.....	36
5.7.3 Standardlösungen	37
5.7.4 Geräte.....	37
5.7.5 Durchführung	38
5.7.6 Berechnung der Analytkonzentration.....	38
5.7.7 Validierung und Präzision.....	39
Anhang A (informativ) Analysenverfahren für flüchtige Monomere und Lösemittel	40
A.1 Statisches Headspace-GC/MS-Verfahren	40
A.1.1 Kurzbeschreibung	40
A.1.2 Reagenzien	40
A.1.3 Referenzlösungen.....	41
A.1.4 Geräte.....	41
A.1.5 Durchführung	42
A.1.6 Berechnung der Analytkonzentration.....	43
A.1.7 Validierung und Präzision.....	44
A.2 GC/MS-Verfahren mit thermischer Desorption	47
A.2.1 Kurzbeschreibung	47
A.2.2 Reagenzien	47
A.2.3 Geräte.....	47
A.2.4 Durchführung	49
A.2.5 Berechnung der Analytkonzentration.....	51
A.2.6 Validierung und Präzision.....	52
Anhang ZA (informativ) Abschnitte in dieser Europäischen Norm, die grundlegende Anforderungen oder andere Vorgaben von EU-Richtlinien betreffen	55
Literaturhinweise	56

Vorwort

Dieses Dokument prEN 71-11 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 52 „Sicherheit von Spielzeug“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DS gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Zum Zusammenhang mit EU-Richtlinien siehe informativen Anhang ZA, der Bestandteil dieses Dokumentes ist.

Die vorliegende Norm stellt den Teil 11 der Europäischen Norm zur Sicherheit von Spielzeug dar.

Dieser Teil sollte in Verbindung mit Teil 9 und Teil 10 gelesen werden.

Diese Europäische Norm enthält die beiden folgenden Anhänge:

- Anhang A (informativ), Analysenverfahren für flüchtige Monomere und Lösemittel;
- Anhang ZA (informativ), Abschnitte in dieser Europäischen Norm, die grundlegende Anforderungen oder andere Vorgaben von EU-Richtlinien betreffen.

Einleitung

Die Europäische Norm EN 71 zur Sicherheit von Spielzeug besteht aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Mechanische und physikalische Eigenschaften;*
- Teil 2: *Entflammbarkeit;*
- Teil 3: *Migration bestimmter Elemente;*
- Teil 4: *Experimentierkästen für chemische und ähnliche Versuche;*
- Teil 5: *Chemisches Spielzeug (Sets) ausgenommen Experimentierkästen;*
- Teil 6: *Graphisches Symbol zur Kennzeichnung mit einem altersgruppenbezogenen Warnhinweis;*
- Teil 7: *Fingermalfarben — Anforderungen und Prüfverfahren;*
- Teil 8: *Schaukeln, Rutschen und ähnliches Aktivitätsspielzeug für den häuslichen Gebrauch (Innen- und Außenbereich);*
- Teil 9: *Organisch-chemische Verbindungen — Probenvorbereitung und Extraktion;*
- Teil 10: *Organisch-chemische Verbindungen — Anforderungen;*
- Teil 11: *Organisch-chemische Verbindungen — Analysenverfahren.*

Die Normen EN 71-9, EN 71-10 und EN 71-11 wurden von der Europäischen Kommission mandatiert (M/229), um die Risiken, die sich aus in Spielzeug enthaltenen organischen Verbindungen ergeben, zu behandeln, indem die potentielle Exposition gegenüber denjenigen Stoffen, die als am risikoreichsten für die Gesundheit angesehen werden, und die toxikologischen Auswirkungen dieser Stoffe betrachtet werden.

Diese Norm legt die Analysenverfahren fest, mit denen die Übereinstimmung mit den in EN 71-9 festgelegten chemischen Anforderungen bewertet werden kann, wenn die Spielzeug- und Spielzeugmaterialieextrakte entsprechend den Probenahmeverfahren von EN 71-10 hergestellt wurden.

Der vorliegende Normteil über die Analysenverfahren sollte in Verbindung mit EN 71-9, worin die Anforderungen hinsichtlich bestimmter organisch-chemischer Verbindungen in Spielzeug enthalten sind, und EN 71-10, in der die Probenvorbereitung und die Extraktionsverfahren beschrieben sind, gelesen werden.

Diese Norm berücksichtigt die 1992 veröffentlichte Stellungnahme der Toxikologischen Sektion des Scientific Advisory Committee (wissenschaftlich beratender Ausschuss) (EUR 13976), nach der empfohlen wird, dass bestimmten Gruppen von chemischen Verbindungen, die in Spielzeug und Spielzeugmaterialien verwendet werden, besondere Aufmerksamkeit zu widmen ist. Bei der Erarbeitung dieser Norm hat das CEN/TC 52 organische Chemikalien betrachtet, die in folgende Gruppen eingeteilt werden können:

- Lösemittel;
- Konservierungsstoffe;
- Weichmacher;
- Flammschutzmittel;
- Monomere;
- Biozide;
- Verarbeitungshilfsmittel;
- Farbmittel.

1 Anwendungsbereich

Der vorliegende Teil 11 der Europäischen Norm EN 71 zur Sicherheit von Spielzeug legt die Verfahren zur Analyse der entsprechend den Probenahmeverfahren in EN 71-10 hergestellten Spielzeug- und Spielzeugmaterial-extrakte fest, um die Übereinstimmung mit den in EN 71-9 festgelegten chemischen Anforderungen bewerten zu können.

Diese Norm legt die Analysenverfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der folgenden Gruppen organischer Chemikalien fest:

- Flammenschutzmittel;
- Farbmittel;
- primäre aromatische Amine;
- nicht-flüchtige Monomere und Lösemittel;
- flüchtige Monomere und Lösemittel;
- Holzschutzmittel;
- Konservierungsstoffe;
- Weichmacher.

2 Normative Verweisungen

Diese Europäische Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Europäischen Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

EN 71-9, *Sicherheit von Spielzeug — Teil 9: Organisch-chemische Verbindungen — Anforderungen.*

EN 71-10, *Sicherheit von Spielzeug — Teil 10: Organisch-chemische Verbindungen — Probenvorbereitung und Extraktion.*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Europäischen Norm gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Spielzeugmaterial

Material, aus denen Spielzeuge und Spielzeugteile hergestellt sind

4 Umweltschutz-, Gesundheitsschutz- und Sicherheitsmaßnahmen

Bei der Erarbeitung dieser Norm wurde die möglichst weitgehende Verringerung der durch die angewendeten Analysenverfahren hervorgerufenen Umweltbelastungen berücksichtigt.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, bei den in dieser Norm festgelegten Analysenverfahren sichere und angemessene Vorgehensweisen zur Handhabung der Materialien anzuwenden.

- Die Hersteller sind hinsichtlich bestimmter Einzelheiten, wie Material-Sicherheitsdatenblätter und anderen Empfehlungen, zu konsultieren.
- In allen Laboratoriumsbereichen sind Schutzbrille und Schutzkittel zu tragen.
- Mit giftigen und/oder human-karzinogenen Substanzen ist vorsichtig umzugehen.
- Zur Herstellung von Lösungen mit organischen Lösemitteln muss ein Abzug benutzt werden.
- Die Lösemittel sind entsprechend den Umweltanforderungen zu entsorgen.

5 Analysenverfahren

ANMERKUNG Alle Chemikalien sollten von analytischem Reinheitsgrad (pro analysi) sein oder, falls nicht verfügbar, dem besten technischen Reinheitsgrad entsprechen. Das Wasser sollte doppelt destilliert sein oder eine ähnliche Beschaffenheit aufweisen und nachweisbar frei von den analytischen Zielverbindungen sein.

5.1 Flammschutzmittel

5.1.1 Kurzbeschreibung

Das Flammschutzmittel wird extrahiert und mittels Flüssigchromatographie-UV/Massenspektrometrie (LC/DAD/MS) analysiert. Die quantitative Bestimmung wird durch Anwendung eines Kalibrierverfahrens mit externem Standard durchgeführt.

5.1.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel

5.1.2.1 Standards

5.1.2.1.1 Pentabromdiphenylether, technisches Isomerengemisch, CAS-Nr. 32534-81-9

5.1.2.1.2 Octabromdiphenylether, technisches Isomerengemisch, CAS-Nr. 32536-52-0

5.1.2.1.3 o-Trikresylphosphat, 98 %, CAS-Nr. 78-30-8

5.1.2.1.4 Tris(2-chlorethyl)-phosphat, 99,5 %, CAS-Nr. 115-96-8

5.1.2.2 Reagenzien und Lösemittel

5.1.2.2.1 Acetonitril

5.1.2.2.2 Dichlormethan

5.1.2.2.3 Ammoniumacetat

5.1.2.2.4 Mobile Phase A: Ammoniumacetat, 10-millimolare wässrige Lösung, mit Essigsäure auf pH 3,6 eingestellt

5.1.2.2.5 Mobile Phase B: Acetonitril

5.1.3 Geräte

Flüssigchromatographie mit DAD-Spektralphotometer und MS-Detektor

Säule:	Zorbax Eclipse XDB C18 (3,5 µm) 2,1 mm × 150 mm, oder eine gleichwertige Säule
Vorsäule:	C18-(ODS octadecyl), 4 mm × 2,0 mm, Phenomenex, oder eine gleichwertige Vorsäule
Mobile Phase A:	10 mmol Ammoniumacetat, pH 3,6
Mobile Phase B:	Acetonitril
Injektionsvolumen:	5 µl
Laufzeit:	30 min
Fluss:	0,3 ml/min
DAD-Modus:	(240 ± 20) nm
DAD-Bereich:	(200 – 800) nm
Zerstäuber:	30 psi.g.
Trockengas:	10 l/min
MS-Bereich:	(110 – 500) <i>m/z</i>
MS-Modus:	Positiv-Scan (Erfassung von positiv geladenen Ionen)
Ionisation:	ESI ⁺
Fragmentor:	80 V
Gradient:	Siehe Tabelle 1

Tabelle 1 — LC-Gradientenprogramm

Zeit min	Mobile Phase A %	Mobile Phase B %
0	60	40
7	40	60
17	2	98
35	2	98

5.1.4 Durchführung

5.1.4.1 Kalibrierstandards

Es werden Standardmischlösungen der Analyte (5.1.2.1) in Acetonitril jeweils mit den folgenden Konzentrationen hergestellt: 1,0 µg/ml, 2,0 µg/ml, 4,0 µg/ml und 8,0 µg/ml.

5.1.5 Bestimmung

Es ist mit der flüssigchromatographischen Bestimmung unter den in 5.1.3 beschriebenen Bedingungen fortzufahren. Die Kalibrierstandards (5.1.4.1) und der nach EN 71-10:200x, 8.1.1.3, erhaltene Extrakt sind zu injizieren.

5.1.6 Qualitativer Nachweis

Bei einem positiven Nachweis sollte der Match-Faktor einer Übereinstimmung von mindestens 85 % entsprechen.

5.1.7 Berechnung der Analytkonzentration

Die Konzentration des Analyten im Extrakt wird mittels der Kalibrierkurve bestimmt, die unter Verwendung der Standards aufgestellt wurde.

5.1.8 Validierung und Präzision

Tabelle 2 — Validierung und Präzision

Bestandteil	Nachweisgrenze µg/ml	Grenze des Arbeitsbereiches mg/kg	Relative Standardabweichung (Konzentrationsniveau: 5 µg/ml) Standardlösungen (entspricht 50 mg/kg in der Probe)
Pentabromdiphenylether (insgesamt 3 Isomere)	0,6	50	2,0
Octabromdiphenylether (insgesamt 4 Isomere)	0,4	50	1,2
o-Trikresylphosphat	0,4	50	2,4
Tris(2-chlorethyl)- phosphat	0,1	50	2,6

— Korrelationskoeffizient (r): > 0,995;

— Linearitätsbereich: (0,5 – 8,0) µg/ml.

5.2 Farbmittel

5.2.1 Kurzbeschreibung

Farbmittel werden mit Flüssigchromatographie mit Diodenarraydetektor (LC/DAD) nachgewiesen und semi-quantitativ bestimmt. Wird ein positiver qualitativer Nachweis erhalten, kann die Absicherung mittels LC/MS erfolgen.

5.2.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel

ANMERKUNG Diese Farbmittel sind nicht als Reinchemikalien erhältlich. Die nachfolgend angegebenen Analyte sind jeweils mit einem typischen Anbieter und der entsprechenden Bestell-Nr. versehen.

5.2.2.1 Standards

5.2.2.1.1 Colour Index (C.I.) Disperse Blue 1

z. B. Sigma Aldrich 21 564-3

5.2.2.1.2 C.I. Disperse Blue 3

z. B. Sigma Aldrich 21 565-1

5.2.2.1.3 C.I. Disperse Blue 106

z. B. Fluka 28241

5.2.2.1.4 C.I. Disperse Blue 124

z. B. Fluka 21620

5.2.2.1.5 C.I. Disperse Yellow 3

z. B. Sigma Aldrich 21 568-6

5.2.2.1.6 C.I. Disperse Orange 3

z. B. Sigma Aldrich 36 479-7

5.2.2.1.7 C.I. Disperse Orange 37

z. B. Fluka 21603

5.2.2.1.8 C.I. Disperse Red 1

z. B. Sigma Aldrich 34 420-6

5.2.2.1.9 C.I. Solvent Yellow 1

z. B. Sigma Aldrich 18 636-8

5.2.2.1.10 C.I. Solvent Yellow 2

z. B. Sigma Aldrich 11 449-9

5.2.2.1.11 C.I. Solvent Yellow 3

z. B. Sigma Aldrich 12 156-8

5.2.2.1.12 C.I. Basic Red 9

z. B. Sigma Aldrich 21 559-7

5.2.2.1.13 C.I. Basic Violet 1

z. B. Sigma Aldrich 19 809-9

5.2.2.1.14 C.I. Basic Violet 3

z. B. Sigma Aldrich 86 099-9

5.2.2.1.15 C.I. Acid-Red 26

z. B. Sigma Aldrich 19 976-1

5.2.2.1.16 C.I. Acid Violet 49

z. B. Sigma Aldrich S334294

5.2.2.2 Reagenzien und Lösemittel**5.2.2.2.1 Tetraäthylammoniumhydroxid-Lösung, 40 % in Wasser****5.2.2.2.2 Zitronensäure**

5.2.2.2.3 Ammoniumacetat**5.2.2.2.4 Acetonitril****5.2.2.2.5 Tetrahydrofuran****5.2.2.2.6 Ethanol, absolut****5.2.2.2.7 Ammoniumhydroxid, etwa 35 % (V/V)****5.2.2.2.8 Eisessig****5.2.2.2.9 Ammoniumacetat, 10-millimolare wässrige Lösung**

In einen 1 000-ml-Messkolben werden 0,77 g Ammoniumacetat auf 0,1 g eingewogen. Der Kolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und der Inhalt mit Essigsäure auf pH 3,6 eingestellt.

5.2.2.2.10 Citrat-gepuffertes Tetrabutylammoniumhydroxid

13,6 g Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung (5.2.2.2.1) und 2,8 g Zitronensäure werden jeweils auf 0,1 g in einen 1 000-ml-Messkolben eingewogen. Der Kolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und mit Ammoniumhydroxid (5.2.2.2.7) auf pH 9 eingestellt.

5.2.3 Standardlösungen

Bei der Herstellung der Farbmittel-Stammlösungen sollten - falls bekannt - jeweils die Reinheitsangaben der Farbmittel berücksichtigt werden. In Fällen, in denen dieser Wert nicht bekannt ist, wird eine Reinheit von 100 % angenommen. Die konzentrierten Stammlösungen sind im Kühlschrank bei (2 – 8) °C aufzubewahren.

5.2.3.1 Standard-Stammlösung (50 µg/ml), Gemisch 1

In einen 50-ml-Messkolben sind jeweils (5 ± 1) mg der nachstehend angegebenen Farbmittel auf 0,1 mg einzuwägen. Nach Zugabe von 25 ml Ethanol (5.2.2.2.8) muss zum Lösen sorgfältig durchgemischt werden. Der Kolben ist zum vollständigen Lösen der Farbmittel für 15 min in ein Ultraschallbad zu stellen. Anschließend wird mit Ethanol bis zur Marke aufgefüllt.

- C.I. Disperse Blue 1;
- C.I. Disperse Blue 106;
- C.I. Disperse Blue 124;
- C.I. Disperse Orange 3;
- C.I. Disperse Orange 37;
- C.I. Solvent Yellow 1;
- C.I. Solvent Yellow 2;
- C.I. Solvent Yellow 3;
- C.I. Basic Red 9;
- C.I. Basic Violet 1;
- C.I. Basic Violet 3.

5.2.3.2 Standard-Stammlösung (50 µg/ml), Gemisch 2

In einen 50-ml-Messkolben sind jeweils (5 ± 1) mg der nachstehend angegebenen Farbmittel auf 0,1 mg einzuwägen. Nach Zugabe von 25 ml Ethanol (5.2.2.2.8) muss zum Lösen sorgfältig durchgemischt werden. Der Kolben ist zum vollständigen Lösen der Farbmittel für 15 min in ein Ultraschallbad zu stellen. Anschließend wird mit Ethanol bis zur Marke aufgefüllt.

- C.I. Disperse Blue 3;
- C.I. Disperse Yellow 3;
- C.I. Disperse Red 1;
- C.I. Acid Red 26;
- C.I. Acid Red 49.

5.2.4 Geräte**5.2.4.1 Filter, PTFE-Membran, 0,45 µm****5.2.4.2 Ultraschallbad****5.2.4.3 HPLC mit Diodenarraydetektor**

Säule: Phenomenex Luna C18(2), 5 µm, 250 mm × 4,6 mm, oder eine gleichwertige Säule
 Vorsäule: 2 × LunaC18(2) Securiguard Cartridges, oder eine gleichwertige Vorsäule
 Säulentemperatur: 25 °C
 Mobile Phase A: Citrat-gepuffertes Tetrabutylammoniumhydroxid
 Mobile Phase B: Tetrahydrofuran
 Mobile Phase C: Acetonitril
 Fluss: 0,8 ml/min
 Injektionsvolumen: (5 – 50) µl
 Gradient: Siehe Tabelle 3
 Analysendauer: 35 min
 Wellenlängenbereich: (275 – 760) nm
 Auflösungsfaktor: 4,8 nm
 Erfassungsrate: 1 Spektrum je Sekunde

Tabelle 3 — Gradientenprogramm

Zeit min	Mobile Phase A %	Mobile Phase B %	Mobile Phase C %
0	80,0	10,0	10,0
2,50	80,0	10,0	10,0
30,0	5,0	48,0	47,0
35,0	5,0	48,0	47,0
45,0	80,0	10,0	10,0

5.2.5 Durchführung

5.2.5.1 Kalibrierstandards

Mit den Standard-Stammlösungen Gemisch 1 (5.2.3.1) und Gemisch 2 (5.2.3.2) sind Farbmittel-Kalibrierstandards in Ethanol jeweils in den Konzentrationen 1 µg/ml, 2 µg/ml, 3 µg/ml, 4 µg/ml und 5 µg/ml herzustellen.

5.2.5.2 Bestimmung

Es ist mit der flüssigchromatographischen Bestimmung unter den in 5.2.4.3 beschriebenen Bedingungen fortzufahren. Die Farbmittel-Kalibrierstandards der Standard-Stammlösungen Gemisch 1 und 2 (5.2.5.1) und die nach EN 71-10:200x, 8.1.3.3 erhaltene ethanolische Phase sind zu injizieren.

5.2.6 Qualitativer Nachweis

Bei einem positiven Nachweis sollte der Match-Faktor einer Übereinstimmung von mindestens 85 % entsprechen.

5.2.7 Berechnung der Analytkonzentration

Die Konzentration des Analyten im Extrakt wird mittels der Kalibrierkurven bestimmt, die mit den Standards aufgestellt wurden.

5.2.8 Validierung und Präzision

Tabelle 3 — Validierung und Präzision

Bestandteil	Relative Standardabweichung (Konzentrationsstufe: 5 µg/ml) Standardlösungen (entspricht 10 mg/kg in der Probe)	Grenze des Arbeitsbereiches mg/kg
C.I. Disperse Blue 1	1,8	10
C.I. Disperse Blue 3	4,9	10
C.I. Disperse Blue 106	4,4	10
C.I. Disperse Blue 124	2,2	10
C.I. Disperse Yellow 3	0,3	10
C.I. Disperse Orange 3	1,6	10
C.I. Disperse Orange 37	2,8	10
C.I. Disperse Red 1	1,6	10
C.I. Solvent Yellow 1	1,1	10
C.I. Solvent Yellow 2	1,1	10
C.I. Solvent Yellow 3	1,6	10
C.I. Basic Red 9	1,1	10
C.I. Basic Violet 1	1,5	10
C.I. Basic Violet 3	1,0	10
C.I. Acid Red 26	2,1	10
C.I. Acid Violet 49	1,4	10

— Korrelationskoeffizient (r): > 0,995;

— Linearitätsbereich: (1 – 5) µg/ml.

5.2.9 Zusätzliche Angaben

Es ist ratsam, mit Hilfe der Software, die für den Betrieb des LC/DAD verwendet wird, eine Spektrenbibliothek aller in 5.2.2.1 angegebenen Farbmittel einzurichten. Falls verfügbar, sollten zusammen mit den Daten der Match-Faktoren, Einzelheiten zu den Retentionszeiten und zu Lambda-Max eines jeden Farbmittels dokumentiert werden.

Es wurde beobachtet, dass einige der Farbmittel in zwei oder mehr chromatographische Peaks auftrennen. Die davon betroffenen Farbmittel waren C.I. Acid Red 26, C.I. Disperse Blue 3, C.I. Acid Violet 49 und C.I. Basic Violet 1. Mittels LC/MS, gekoppelt mit LC/DAD wurde versucht, diese Peaks zu charakterisieren. Die für die LC/MS-Analyse angewendeten Bedingungen werden nachstehend im Einzelnen angegeben.

5.2.9.1 Instrumentelle LC/MS-Bedingungen für die Absicherungsanalyse

Säule: Phenomenex MAX RP 80 Å, 150 mm × 2 mm, oder eine gleichwertige Säule
 Mobile Phase A: Ammoniumacetat, 10 mmol, mit Essigsäure auf pH 3,6 eingestellt
 Mobile Phase B: Acetonitril
 Fluss: 0,3 ml/min
 Gradient: Siehe Tabelle 5

Tabelle 5 — Gradientenprogramm

Zeit min	Mobile Phase A %	Mobile Phase B %
0	60,0	40,0
15,0	40,0	60,0
25,0	20,0	80,0
28,0	20,0	80,0
30,0	60,0	40,0
32,0	60,0	40,0

5.2.9.2 LC/MS- und LC/MS/MS-Absicherung

Bei der Bestimmung der Massenionen der jeweiligen Farbmittel wurde festgestellt, dass C.I. Solvent Yellow 2 und C.I. Solvent Yellow 3 ein identisches Massenion (M^+ 226,1) liefern. Die Prüfung der Chromatogramme der selektiven Ionenaufzeichnung (SIR-Modus) ergab, dass zwei verschiedene, gut getrennte Peaks jeweils mit M^+ 226,1 auftraten.

Des Weiteren wurden zusätzliche, unerwartete Peaks in den SIR-Chromatogrammen gefunden. Diese wurden Verunreinigungen in den Farbmittelstandards zugeordnet, die ähnliche Massen wie die untersuchten Farbmittel besitzen.

Mittels LC/MS/MS wurden beide Probleme überwunden. Diese Technik ist erst seit den frühen 1990er Jahren im Handel erhältlich und erlaubt den sicheren Nachweis von Verbindungen. LC/MS alleine liefert normalerweise keine Fragmentierung der Verbindungen wie die GC/MS und lässt das Mutter- M^+ -Ion oft intakt. Mit der Einführung der MS/MS-Technik kann das erste Massenspektrogramm als Screening für das interessierende Mutter- M^+ -Ion verwendet werden. Dieses Ion wird dann in einer Stoßkammer fragmentiert; die Fragmente (Tochterionen) werden im SIM-Modus mittels weiterem MS detektiert.

Das Selektieren des Mutter-M⁺-Ions im Vorfeld, gekoppelt mit der Fragmentierung dieses Ions, bedeutet eine sehr geringe Nachweisunsicherheit. Durch Anwendung dieses Verfahrens konnten die beiden Peaks im SIR-Chromatogramm des M⁺-Ions 226,1 zugeordnet werden. Des Weiteren weist diese Technik eine geringe Interferenz mit den Chromatogrammen der Verunreinigungen auf.

ANMERKUNG Mit einem Massenspektrometer vom Typ Micromass Quattro Ultima mit MassLynx-Betriebssystem erwiesen sich für die Analyse von Farbmitteln folgende Bedingungen als geeignet:

Polarität:	Positivionen-Elektrospray (ES ⁺)
Kapillare:	3,00 kV
Temperatur der Ionenquelle:	120 °C
Desolvationstemperatur:	400 °C
Zusatzgas-Durchflussmenge:	105 l/h
Desolvationsgas-Durchflussmenge:	619 l/h
Multiplier:	650 V

5.3 Primäre aromatische Amine

5.3.1 Kurzbeschreibung

Aromatische Amine werden in wässrigen Extrakten von Spielzeugmaterialien bestimmt. Nach der Flüssig-Flüssig-Extraktion der aromatischen Amine mit *tert*-Butylmethylether werden die Lösungen mittels GC/MS bestimmt, indem mit externen Standards kalibriert wird.

5.3.2 Standards, Reagenzien und Lösemittel

5.3.2.1 Standards

5.3.2.1.1 Benzidin

5.3.2.1.2 Anilin

5.3.2.1.3 2-Naphtylamin

5.3.2.1.4 3,3'-Dichlorbenzidin

5.3.2.1.5 3,3'-Dimethoxybenzidin

5.3.2.1.6 3,3'-Dimethylbenzidin

5.3.2.1.7 2-Methoxyanilin

5.3.2.1.8 o-Toluidin

5.3.2.1.9 4-Chloranilin

5.3.2.2 Lösemittel und Reagenzien

5.3.2.2.1 Acetonitril

5.3.2.2.2 *tert*-Butylmethylether, HPLC-Reinheitsgrad

5.3.2.2.3 *n*-Hexan, HPLC-Reinheitsgrad

5.3.2.2.4 Chromabond XTR (Poröses Kieselgur-Granulat)

5.3.2.3 Standard-Stammlösung (100 µg/ml)

In einen 100-ml-Messkolben sind jeweils (10 ± 1) mg eines aromatischen Amins auf 0,1 mg einzuwägen. Nach Zugabe von 25 ml Acetonitril (5.3.2.2) muss zum Lösen sorgfältig durchmischt werden. Zum vollständigen Lösen ist der Kolben für 10 min in ein Ultraschallbad zu stellen. Anschließend wird mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt.

Die Standard-Stammlösung ist im Kühlschrank bei $(2 - 8) ^\circ\text{C}$ aufzubewahren.

5.3.3 Geräte

5.3.3.1 Ultraschallbad

5.3.3.2 Messpipetten aus Glas

5.3.3.3 Homogenisator (z. B. Vortexmischer)

5.3.3.4 Zentrifuge

5.3.3.5 Gaschromatograph mit MSD

Vor der Analyse ist sicherzustellen, dass das GC/MS-Gerät vollständig gereinigt wurde, da die Bestimmung der aromatischen Amine mit dieser Technik durch andere Verunreinigungen beeinflusst wird. Es wird empfohlen, dass der Probeneinlass deaktiviert ist und eine amin-spezifische Säule verwendet wird.

Folgende GC/MS-Bedingungen erwiesen sich für die Bestimmung der aromatischen Amine als geeignet:

Injektion:	Splitlos (ohne Probenteilung)
Waschlösemittel:	<i>n</i> -Hexan
Säulenlänge:	30 m
Säuleninnendurchmesser (ID):	0,25 mm
Phase:	RTX-5-Amin oder eine gleichwertige
Dünnschichtdicke:	0,25 µm
Trärgas:	Helium
Trärgas-Durchflussmenge:	0,8 ml/min
Injektortemperatur:	250 °C
Transfer Line:	280 °C
Ofenprogramm:	60 °C für 3 min, Temperaturanstieg um 7 °C/min auf 280 °C, Halten für 4 min, Temperaturanstieg um 10 °C/min auf 300 °C, Halten für 2 min
Gesamtlaufzeit:	43 min
Injektionsvolumen:	2 µl
MSD-Verzögerungszeit:	5 min
Modus:	Vollerfassung (70 u bis 400 u)

5.3.3.6 Ionen für den quantitativen Nachweis

Für jedes aromatische Amin ist das Molekülion als Zielion, gefolgt von zwei Bestätigungsgionen für die qualitative Bestätigung, zu wählen.