МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
34947—
2023**

ПРЕДМЕТЫ УХОДА ЗА ДЕТЬМИ. СОСКИ ДЕТСКИЕ

Методы определения N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2023

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Российский институт стандартизации» (ФГБУ «Институт стандартизации»), Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 542 «Продукция нефтехимического комплекса»

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 31 марта 2023 г. № 160-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 июля 2023 г. № 510-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34947—2023 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2025 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения стандарта DIN EN 12868:2017 «Изделия для младенцев и детей раннего возраста. Метод определения выделения N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ из эластомерных или резиновых сосок и пустышек» («Artikel für Säuglinge und Kleinkinder — Verfahren zur Bestimmung der Abgabe von N-nitrosaminen und N-nitrosierbaren Stoffen aus Flaschen- und Beruhigungssaugern aus Elastomeren oder Gummi», NEQ)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2023

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Реактивы и материалы 2
6 Аппаратура 3
7 Стандартные растворы N-нитрозоаминов 6
8 Проведение испытаний 6
9 Обработка результатов 10
10 Подтверждение N-нитрозоаминов 12
11 Допустимые отклонения результатов испытания 12
12 Прецизионность 13
13 Протокол испытаний 16
Приложение А (справочное) Пример вычисления результатов и протокола испытаний 18
Приложение Б (справочное) Альтернативные методы определения 21
Библиография 23

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРЕДМЕТЫ УХОДА ЗА ДЕТЬМИ. СОСКИ ДЕТСКИЕ

Методы определения N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ

Child care articles. Child teats.
Test methods for determination of N-nitrosamines and N-nitrosatable substances

Дата введения — 2025—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы определения N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ, мигрирующих из эластомерных, латексных или резиновых детских сосок и сосок-пустышек (далее — соски), с использованием раствора искусственной слюны.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 61 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3145 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 9293 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 9968 Метилен хлористый технический. Технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ ISO 3696* Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018 «Вода дистиллированная. Технические условия».

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **N-нитрозоамин:** Вещество, характеризующееся функциональной группой N—NO, обычно получаемое реакцией взаимодействия амина (в основном вторичные амины) с нитритом в кислой среде.

3.2 **N-нитрозообразующее вещество:** Вещество, которое, мигрируя в испытуемый раствор, проходит нитризирование для образования N-нитрозоамина при определенных условиях.

3.3 **N-нитроамин:** Вещество, характеризующееся функциональной группой $N—NO_2$ (N-нитро), в которой группа NO_2 связана с амином, также называемое N-нитрамином.

4 Сущность метода

При заданных условиях N-нитрозоамины и N-нитрозообразующие вещества экстрагируют в раствор искусственной слюны, содержащий соли азотистой кислоты. Используют два метода экстракции (А и Б): А — для определения N-нитрозообразующих веществ (определение N-нитрозоаминов из миграционного раствора А после нитрозирования) и Б — для определения N-нитрозоаминов (из миграционного раствора Б). После извлечения из экстракционного раствора и концентрирования определяют содержание N-нитрозоаминов в полученных концентратах методом газовой хроматографии, используя хемилюминесцентный детектор (ТЭА), или другим соответствующим аналитическим методом.

Содержание выделенных N-нитрозоаминов выражают в микрограммах на килограмм образца.

5 Реактивы и материалы

Используют реактивы квалификации ч. д. а., не содержащие N-нитрозоамины и N-нитрозообразующие вещества (см. 8.8).

5.1 Вода дистиллированная или вода эквивалентной чистоты, соответствующая третьему классу по ГОСТ ISO 3696.

5.2 Раствор водный гидроокиси аммония, $c(NH_4OH)$ = 0,1 моль/дм^3, CAS 1336-21-6.

5.3 Кислота соляная по ГОСТ 3118, CAS 7647-01-0.

5.3.1 Кислота соляная разбавленная, c(HCl) = 0,1 моль/дм^3.

5.3.2 Кислота соляная разбавленная, c(HCl) = 1,0 моль/дм^3.

5.4 Гидроокись натрия по ГОСТ 4328, CAS 1310-73-2.

5.4.1 Раствор гидроокиси натрия, c(NaOH) = 0,1 моль/дм^3.

5.4.2 Раствор гидроокиси натрия, c(NaOH) = 1,0 моль/дм^3.

5.5 Раствор искусственной слюны

Готовят раствор искусственной слюны (далее — раствор) из солей, указанных в таблице 1, растворяя их в (950 ± 5) см^3 воды (5.1).

Раствор должен иметь значение pH = (9,0 ± 0,1). При необходимости доводят pH раствора до указанного значения, добавляя по каплям 0,1 М соляной кислоты (5.3.1) или 0,1 М раствора гидроокиси натрия (5.4.1). Переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 и доводят до метки водой (5.1).

Примечание — Хранят раствор не более пяти дней.

Таблица 1 — Соли, используемые для приготовления 1 дм^3 раствора

Наименование	Номер CAS	Масса, г
Бикарбонат натрия	144-55-8	4,200 ± 0,021
Хлорид натрия	7647-14-5	0,5000 ± 0,0025
Карбонат калия	584-08-7	0,200 ± 0,001
Нитрат натрия	7632-00-0	0,030 ± 0,001
Примечание — Предельное отклонение массы солей (кроме нитрата натрия) — ± 0,5 %.		

5.6 Этанол абсолютный, CAS 64-17-5.
5.7 Дихлорметан по ГОСТ 9968, CAS 75-09-2.
5.8 Стекловата, промытая дихлорметаном (5.7).
5.9 Кизельгур (диатомовая земля).

Примечание — Для очищения кизельгура от нитрозоаминов его нагревают до температуры 200 °С в течение 1 ч, охлаждают и промывают дихлорметаном (5.7) или прокаливают 4 ч при температуре 550 °С.

5.10 Песок морской, промытый кислотой и прокаленный.
5.11 Азот повышенной чистоты по ГОСТ 9293.
5.12 Гранулы для кипячения (кипелки).
5.13 Раствор бромистоводородной кислоты (HBr) 15 %-ный, CAS 10035-10-6.
5.14 Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61, CAS 64-19-7.
5.15 Ацетон по ГОСТ 2603, CAS 67-64-1.

6 Аппаратура

6.1 Концентрация стандартных растворов N-нитрозоамина во время хранения может изменяться из-за ультрафиолетового излучения, разложения, испарения и/или адсорбции.

Используют стеклянную посуду из темного стекла и/или стекла, защищенного от света путем обертывания алюминиевой фольгой; посуду закрывают притертыми пробками.

Перед использованием стеклянную посуду следует промыть раствором гидроокиси аммония (5.2), затем промыть водой (5.1) и высушить.

Примечание — Промывание посуды необходимо для предотвращения неконтролируемого нитрозирования при контакте образца с кислотными поверхностями.

6.2 Термостат, обеспечивающий поддержание температуры (40 ± 2) °С.

6.3 Колонки для твердофазной экстракции (ТФЭ)

Используют стеклянные колонки длиной примерно 450 мм, внутренним диаметром (18 ± 2) мм или колонки длиной приблизительно 300 мм, внутренним диаметром (26 ± 2) мм. После подготовки по 8.5 вместимость колонок должна превышать объемы миграционных растворов А или Б (см. 8.6). Колонки могут иметь на выходе запорный кран (например, из политетрафторэтилена) для регулирования потока элюента.

Альтернативно используют имеющиеся в продаже предварительно заполненные одноразовые колонки для ТФЭ требуемой вместимости и не содержащие N-нитрозоаминов.

6.4 Фритты из спеченного стекла для колонок (6.3).

6.5 Колбы для восстановления, стеклянная посуда для концентрирования (8.7) по ГОСТ 25336 или любой подходящий автоматический испаритель, способный уменьшить объем экстракта А или Б (60 $см^3$ или более, см. 8.6) до (0,9 ± 0,1) $см^3$.

6.6 Баня водяная с температурой от 40 °С до 60 °С.

6.7 Виалы (ампулы) стеклянные для газовой хроматографии с септой (уплотнительной прокладкой), не содержащей N-нитрозоамины.

6.8 УФ-лампа, подходящая для подтверждения N-нитрозоаминов в соответствии с 10.1 [метод а)]. Облучение калибровочного раствора с наибольшей концентрацией N-нитрозоаминов в пробирке из прозрачного УФ-стекла должно вызывать разложение N-нитрозоаминов за 1—3 ч и тем самым значительно снижать интенсивность их пиков.

Примечание — Установлено, что УФ-лампы с длиной волны 365 нм значительно снижают интенсивность пиков калибровочного раствора, содержащего самую высокую концентрацию N-нитрозоаминов, также пригодны УФ-лампы со средней или короткой длиной волны.

6.9 Флаконы стеклянные прозрачные для УФ-излучения для подтверждения N-нитрозоаминов в соответствии с 10.1 [метод а)].

6.10 pH-метр с погрешностью измерения не более 0,1 pH.

6.11 Детектор хемилюминесцентный (термоэнергетический анализатор — ТЭА).

6.12 Газовый хроматограф (ГХ)

6.12.1 Общие требования

Система ГХ должна обеспечивать разделение N-нитрозоаминов, указанных в настоящем стандарте, таким образом, чтобы площади пиков были сопоставимы с пиками внутреннего стандарта (7.4), а также отделять N-нитроамины (3.3) от N-нитрозообразующих веществ.

Если будут обнаружены N-нитрозоамины, отличные от указанных в таблице 2, система ГХ должна обеспечивать возможность их разделения и идентификации путем подбора условий ГХ.

N-нитрозоамины, которые невозможно идентифицировать, должны быть подтверждены в соответствии с 10.1, перечисление а), а также количественно определены и зарегистрированы в соответствии с 9.1.

Таблица 2 — Наименования, обозначения и номера CAS N-нитрозоаминов, пределы количественного определения

Наименование	Обозначение	CAS	Предел количественного определения LOQ, мг/кг
N-нитрозодиметиламин	NDMA	62-75-9	0,001
N-нитрозодиэтиламин	NDEA	55-18-5	0,001
N-нитрозодипропиламин	NDPA	621-64-7	0,001
N-нитрозодиизобутиламин	NDiBA	997-95-5	0,001
N-нитрозодибутиламин	NDBA	924-16-3	0,001
N-нитрозопиперидин	NPIP	100-75-4	0,001
N-нитрозопиролидин	NPYR	930-55-2	0,001
N-нитрозоморфолин	NMOR	59-89-2 или 67587-56-8	0,001
N-нитрозо-N-этил-N-фениламин	NEPhA	612-64-6	0,005
N-нитрозо-N-метил-N-фениламин	NMPhA	614-00-6	0,005
N-нитрозо-N, N-ди(3,5,5-триметилгексиламин), также известный как N-нитрозодиизонониламин	NDiNA	1207995-62-7	0,005
N-нитрозодибензиламин	NDBzA	5336-53-8	0,005
Примечание — N-нитрозоамины перечислены в порядке элюирования, как показано на рисунке 1.			

6.12.2 Пример условий определения N-нитрозоаминов в сосках

Пример хроматограммы ГХ определения N-нитрозоаминов в сосках показан на рисунке 1. Хроматограмма записана с использованием детектора ТЭА, объем ввода 5 мкл из калибровочного раствора 15 N-нитрозоаминов (при 200 нг/мл), включая внутренний стандарт; проводили автоматическое интегрирование пиков. Использованы следующие условия ГХ:

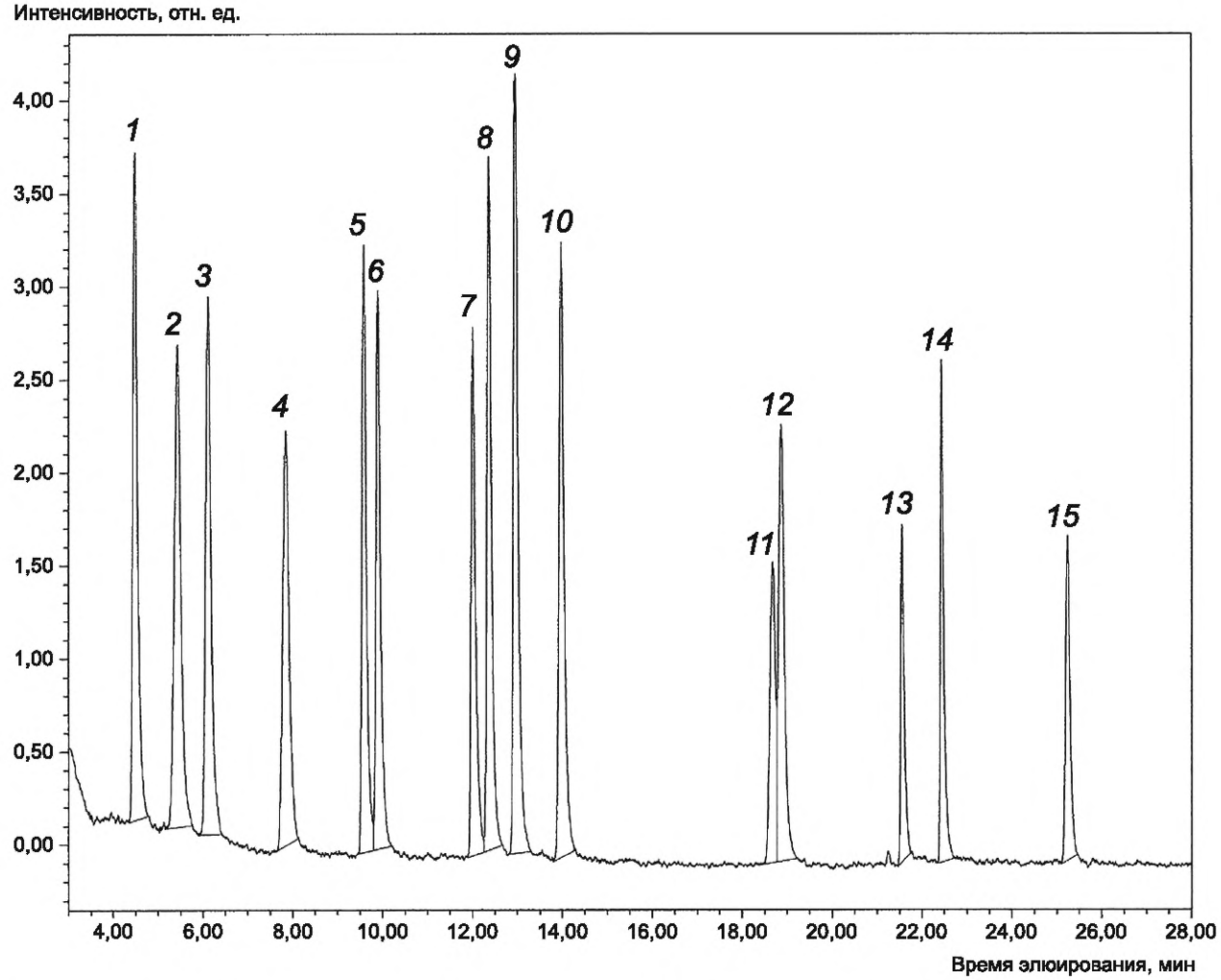
- температура инжектора: 150 °С, 1 мин 250 °С (100 °С/мин);
- температура термостата: 60 °С, 0,2 мин/82 °С (15 °С/мин)/88 °С (1 °С/мин)/140 °С (15 °С/мин) 7 мин/250 °С (25 °С/мин) 10 мин.

Колонка: DB-FFAP, длина 30,0 м, диаметр 0,53 мм, пленка толщиной 1,5 мкм.

Температура пиролизной печи: 500 °С.

Газ-носитель: гелий, скорость потока (40 ± 2) $см^3$/мин.

Соединение: непосредственно между колонкой ГХ и пиролизной печью.



1 — NDMA; *2* — NEMA; *3* — NDEA; *4* — NDiPA; *5* — NDPA; *6* — NDiBA; *7* — NDBA; *8* — NPIP; *9* — NPYR; *10* — NMOR; *11* — NEPhA; *12* — NMPhA; *13* — NDiNA; *14* — NDCHA; *15* — NDBzA

Рисунок 1 — Пример хроматограммы (ГХ) калибровочного раствора, записанной с помощью ТЭА

Сокращения на пиках соответствуют сокращениям в таблице 2; исключением является NDCHA (N-нитрозодициклогексиламин, CAS 947-92-2), время элюирования — 23 мин.

В то время как все остальные пики хорошо разделены, пики NEPhA и NMPhA перекрываются. Следовательно, вышеуказанные условия испытания образцов с сигналами в диапазоне NEPhA и NMPhA следует скорректировать для достижения лучшего разделения этих пиков.

6.13 Весы высокого класса (II) точности по ГОСТ OIML R 76-1 с действительной ценой деления, не превышающей 0,01 г.

6.14 Колба Эрленмейера по ГОСТ 25336.

6.15 Пинцет или щипцы.

6.16 Часы по ГОСТ 3145.

6.17 Пипетки мерные по ГОСТ 1770.

6.18 pH-метр с погрешностью измерения не более ± 0,2 pH.

6.19 Плитка нагревательная.

7 Стандартные растворы N-нитрозоаминов

7.1 Общие требования

Предупреждение — N-нитрозоамины могут представлять опасность для здоровья человека из-за своей токсичности. Оборудование, контактирующее с N-нитрозоаминами, после использования следует тщательно обработать для удаления следов N-нитрозоаминов, например, промывая 15 %-ным раствором HBr или ледяной уксусной кислотой, облучая УФ-светом, или другими подходящими методами.

Гомогенизируют растворы энергичным встряхиванием емкостей перед переливанием жидкости (на внутренних поверхностях накапливается некоторое количество N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ).

Допускается использовать имеющиеся в продаже сертифицированные стандартные растворы N-нитрозоаминов и их смеси. Сертификат должен содержать информацию о хранении и стабильности, а также о чистоте веществ, что необходимо учитывать при расчете количества стандартных растворов.

Исходные растворы (примерно 1 мг/см^3) N-нитрозоаминов в этаноле (5.6) хранят в морозильной камере.

Внутренний стандарт и калибровочные растворы (7.4 и 7.3) следует хранить защищенными от воздействия света при температуре ниже 5 °С; срок хранения — не более двух недель.

7.2 N-нитрозоамины, обнаруженные в образцах сосок

N-нитрозоамины и/или соответствующие N-нитрозообразующие вещества, перечисленные в таблице 2, идентифицированы в баллончиках сосок, проверены и использованы в качестве калибровочных стандартов.

Примечание — N-нитрозодиэтаноламин (NDELA, CAS 1116-54-7) ранее в детских сосках не обнаруживали. Анализ NDELA в соответствии с настоящим стандартом требует дериватизации.

7.3 Калибровочные растворы (для отклика детектора)

Исходные калибровочные растворы готовят смешением соответствующих количеств исходных растворов испытуемых N-нитрозоаминов (см. таблицу 2).

Готовят не менее четырех разных калибровочных растворов с концентрациями в диапазоне от 5 до 500 нг/см^3 для каждого содержащегося N-нитрозоамина, разбавляя этанолом (5.6) и добавляя раствор внутреннего стандарта (7.4).

Калибровочный раствор холостой пробы и каждый из приведенных выше калибровочных растворов должны содержать приблизительно 100 нг/см^3 (1 мкг/см^3) внутреннего стандарта (7.4).

Примечание — Для каждой точки калибровки e концентрации внутреннего стандарта и каждого N-нитрозоамина в растворе указывают как $C_{\text{int},\,e}$ и $C_{i,\,e}$ (см. 8.9.1).

7.4 N-нитрозоамины в качестве внутреннего стандарта

В качестве внутреннего стандарта можно использовать N-нитрозодиизопропиламин (NDiPA). Раствор внутреннего стандарта не должен содержать другие N-нитрозоамины и иметь концентрацию в этаноле (5.6) примерно 200 нг/см^3.

8 Проведение испытаний

8.1 Общие положения

Образцы следует хранить в закрытых емкостях в защищенном от воздействия света месте при комнатной температуре. Следует избегать любого загрязнения во время подготовки пробы (в т. ч. использования резиновых перчаток).

N-нитрозоамины и N-нитрозообразующие вещества, выделяющиеся из баллончиков сосок, определяют не менее двух раз, включая этапы подготовки проб.

Образцы для методов А и Б следует готовить отдельно, включая кипячение и экстрагирование.

Для каждого испытанного N-нитрозоамина (см. таблицу 2) и для внутреннего стандарта (7.4) обнаружение должно составлять 95^{+5}_{-30} %.

8.2 Подготовка проб

Соски-пустышки следует использовать целиком, включая утолщенные участки на открытом конце (называемые венчиком или загнутыми краями). Их снимают с пустышки, не разрезая баллончик, что может привести к разрушению пластиковых частей пустышки. Используемые инструменты не должны загрязнять соску.

Если всасывающая часть пустышки частично закрывает каппу, ее не следует отрезать, а удаляют целиком, вместе с частью, закрывающей накладку.

Если отрезание всасывающей части неизбежно, это должно быть указано в протоколе испытаний.

Для полностью эластомерных пустышек или сосок, состоящих из разных эластомеров, следует разделять эластомерные компоненты и испытывать как отдельные образцы.

Примечание — Компоненты полностью эластомерных пустышек включают, например, соску, защитный диск и кольцо. Эти детали могут быть изготовлены по разным технологиям или из разных смесей.

8.3 Метод А (определение N-нитрозообразующих веществ)

8.3.1 Подготовка проб и кипячение

Для каждого испытания по методу А масса пробы должна быть не менее (5,5 ± 0,5) г. Для достижения необходимых пределов обнаружения допускается использовать пробы большей массы, но не более 10 г. При этом следует поддерживать соотношение образца и объема реактивов, вместимость лабораторной посуды, включая разделительные колонки.

Разрезают баллончики сосок по главной оси, чтобы получить примерно симметричные части.

Общая масса взвешенных половинок должна быть не менее 5,0 г. Если масса превышает 6,0 г, то последнюю половинку разрезают надвое по большой оси до получения примерно симметричных частей, одну часть не используют. При необходимости повторяют процедуру с наименьшим кусочком, пока не будет получена требуемая масса образца.

Каждую половинку молочной соски разрезают посередине первоначального разреза, чтобы обеспечить полное погружение в раствор.

Для пустышек дальнейшие разрезы не делают.

Другие эластомерные компоненты соски-пустышки испытывают как отдельные образцы. Их разрезают симметрично вдоль большой оси, а также вдоль малой оси и, при необходимости, разрезают дополнительно, как описано выше, для получения требуемой массы образца.

Массу образцов m записывают в граммах. Для каждого отдельного определения переносят кусочки образца в химический стакан, содержащий (300 ± 30) $см^3$ кипящей воды (5.1), и кипятят в течение 10 мин. Затем извлекают кусочки из воды с помощью пинцета или щипцов, стряхивая лишнюю воду, и сразу переносят в колбу Эрленмейера (см. 8.3.2).

8.3.2 Приготовление миграционного раствора А (определение N-нитрозообразующих веществ)

Используют колбу Эрленмейера подходящей вместимости (примерно 30 $см^3$).

Образец должен быть полностью покрыт испытательным раствором.

Добавляют в колбу пипеткой 4 $см^3$ испытательного раствора (5.5) на 1 г образца (m × 4 $см^3$/г) к образцам по 8.3.1.

При массе образца, например 5,7 г, объем испытательного раствора должен быть (22,8 ± 0,5) $см^3$.

Закрывают колбу притертой стеклянной пробкой и осторожно встряхивают таким образом, чтобы кусочки пробы были смочены и полностью покрыты испытательным раствором. Затем помещают закрытую колбу в термостат (6.2) при температуре (40 ± 2) °С на (24,0 ± 0,5) ч.

Примечание — Для полного погружения кусочков пробы допускается добавлять в колбу стеклянные шарики.

Затем удаляют колбу из термостата и энергично встряхивают вручную пять раз.

Открывают колбу пинцетом или щипцами, извлекают из раствора образцы по одному, стряхивая излишки раствора в колбу; удаляют образцы, а раствор оставляют в колбе.

Полученный раствор обозначают как миграционный раствор А.

Сразу переходят к выполнению процедур по 8.3.3.

8.3.3 Нитрозирование миграционного раствора А и приготовление раствора А

Помещают колбу с миграционным раствором А в термостат (6.2) при температуре (40 ± 2) °С и нагревают в течение (30 ± 1) мин.

Затем удаляют колбу из термостата и энергично встряхивают вручную пять раз.

Открывают колбу и добавляют с помощью пипетки (2,5 ± 0,1) $см^3$ 1 М раствора соляной кислоты (5.3.2); закрывают колбу пробкой и перемешивают встряхиванием вручную пять раз. Сразу помещают колбу в термостат (6.2) при температуре (40 ± 2) °С и выдерживают (30 ± 1) мин.

Затем удаляют колбу из термостата, добавляют пипеткой (5,0 ± 0,1) $см^3$ 1 М раствора гидроокиси натрия (5.4.2) и встряхивают колбу для подщелачивания раствора и остановки реакции нитрозирования.

Добавляют пипеткой (0,50 ± 0,01) $см^3$ раствора внутреннего стандарта (7.4) и, закрыв притертой пробкой, перемешивают встряхиванием. Полученный раствор обозначают как раствор А.

Раствор А должен быть защищен от воздействия света; хранят в холодильнике, если предполагается хранение в течение ночи. Для более длительного хранения раствор можно заморозить в подходящий емкости.

8.4 Метод Б (определение N-нитрозоаминов)

8.4.1 Подготовка проб и кипячение

Пробу готовят по 8.3.1, затем сразу приступают к процедуре в соответствии с 8.4.2.

8.4.2 Приготовление миграционного раствора Б (определение N-нитрозоаминов)

Миграционный раствор Б готовят аналогично 8.3.2, затем сразу готовят раствор в соответствии с 8.4.3.

8.4.3 Приготовление раствора Б

Добавляют в миграционный раствор Б (8.4.2) пипеткой (0,60 ± 0,01) $см^3$ раствора гидроокиси натрия (5.4.2) и перемешивают содержимое колбы. Добавляют пипеткой (0,50 ± 0,01) $см^3$ раствора внутреннего стандарта (7.4) и закрывают колбу пробкой. Полученный раствор обозначают как раствор Б.

Раствор Б должен быть защищен от воздействия света; хранят в холодильнике, если предполагается хранение в течение ночи. Для более длительного хранения раствор можно заморозить в подходящей емкости.

8.5 Подготовка экстракционных колонок для растворов А и Б

Колонки для ТФЭ, используемые для растворов А и Б, готовят одинаково.

Закрывают дно колонки (6.3) стекловатой (5.8) или фриттой из спеченного стекла (6.4) и добавляют (25,0 ± 0,5) г кизельгура (5.9).

При заполнении колонки кизельгур следует уплотнить, чтобы предотвратить образование пустот, которые могут привести к прорыву жидкости при заполнении раствором А или Б или при элюировании, например путем постепенного заполнения колонки, часто прерываемого постукиванием по наружной поверхности колонки для равномерного распределения.

Вместимость подготовленной колонки должна обеспечивать сухую зону от 50 до 70 мм над дном колонки при помещении в нее всего объема раствора А или Б. После элюирования дихлорметана (8.6.1) высота оставшейся сухой зоны должна быть достаточной, чтобы избежать возможного элюирования воды в экстракт. При необходимости регулируют количество кизельгура (5.9).

Примечание — При элюировании дихлорметана высота сухой зоны над дном колонки уменьшается. Этот процесс легко наблюдать по различным оттенкам влажного и смоченного дихлорметаном кизельгура. Важно не достичь сухой зоны, иначе элюат может содержать воду.

Закрывают верх колонки фриттой из спеченного стекла (6.4) или слоем морского песка (5.10) толщиной примерно 1 см.

8.6 Экстрагирование N-нитрозоаминов

8.6.1 Раствор А

Закрывают колбу с раствором А (8.3.3), энергично встряхивают вручную пять раз и медленно переносят содержимое в экстракционную колонку (8.5).

Помещают в колбу (30,0 ± 0,5) $см^3$ дихлорметана (5.7), закрывают пробкой и энергично встряхивают вручную пять раз.

Предупреждение — Давление в колбе может возрастать при встряхивании раствора с дихлорметаном. Осторожно снижают давление, чтобы не вылилось содержимое.

Добавляют через (15 ± 1) мин в колонку промывной раствор дихлорметана из колбы для абсорбции раствора А кизельгуром. Собирают элюат в колбу для восстановления (6.5). Используя запорный кран (см. 6.3), регулируют скорость элюирования, чтобы получить непрерывный поток дихлорметана и предотвратить высыхание колонки.

Промывают колбу еще раз (30,0 ± 0,5) $см^3$ дихлорметана и переносят промывной раствор в колонку для элюирования, как описано выше. Для повышения степени извлечения этот этап можно повторить, увеличив количество дихлорметанового экстракта.

После сбора экстракта добавляют (1,00 ± 0,01) $см^3$ этанола (5.6) в колбу для восстановления (6.5). Полученный экстракт обозначают как экстракт А.

8.6.2 Раствор Б

Для получения экстракта Б выполняют процедуры по 8.6.1 с использованием раствора Б. Полученный экстракт обозначают как экстракт Б.

8.7 Концентрирование N-нитрозоаминов

8.7.1 Экстракт А

8.7.1.1 Общие требования

Концентрируют экстракт А в колбе (6.5) до объема (0,9 ± 0,1) $см^3$. Важно, чтобы объем на стадии концентрирования не снижался менее 0,8 $см^3$ из-за летучести N-нитрозоаминов.

После достижения комнатной температуры концентрированный раствор переносят в стеклянные виалы для ГХ (6.7) и закупоривают. Полученный концентрат обозначают как концентрат А.

Метод, изложенный в 8.7.1.2, приведен в качестве примера.

8.7.1.2 Пример

Добавляют в колбу для восстановления (6.5) две или три гранулы для кипячения (5.12) и кипятят экстракт на водяной бане (6.6) при температуре (40 ± 2) °С, медленно повышая температуру до (60 ± 2) °С, до получения объема (5 ± 1) $см^3$. После охлаждения промывают стенки восстановительной колбы примерно 2 $см^3$ дихлорметана (5.7). Затем концентрируют экстракт до объема (0,9 ± 0,1) $см^3$, осторожно пропуская над ним азот (5.11).

8.7.2 Экстракт Б

Для получения концентрата экстракта Б выполняют процедуры по 8.7.1 с использованием экстракта Б. Полученный концентрат обозначают как концентрат Б.

8.8 Концентрирование холостой пробы

Холостую пробу готовят так же, как и экстракт А, с использованием всех процедур, указанных в 8.3—8.7, с объемом испытуемого раствора, как для образца А, но без образца и стадии экстракции. Полученный концентрат обозначают как концентрат холостой пробы.

8.9 Анализ экстрактов

8.9.1 Калибровка

Вводят в газовый хроматограф, соединенный с хемилюминесцентным детектором (6.11), соответствующие объемы калибровочных растворов, включая контрольный калибровочный раствор (7.3). Условия хроматографии должны быть выбраны таким образом, чтобы выполнялись требования, указанные в 6.12.

Вводимые объемы (обычно от 2 до 5 мкл) следует выбирать таким образом, чтобы можно было однозначно определить самую низкую точку калибровки и были достигнуты пределы количественного определения, указанные в таблице 2.

Калибровочную кривую для каждого исследуемого N-нитрозоамина строят следующим образом.

Для каждого *i*-го N-нитрозоамина измеренное отношение площадей пиков $A_{i,\,e}/A_{\text{int},\,e}$ наносят на график в зависимости от соответствующего отношения концентраций $C_{i,\,e}/C_{\text{int},\,e}$ для каждой точки калибровки *e*.

$A_{i,\,e}$ — площадь пика *i*-го вещества в точке калибровки *e*;

$A_{\text{int},\,e}$ — площадь пика внутреннего стандарта в точке калибровки *e*;

$C_{i,\,e}$ — концентрация *i*-го вещества в точке калибровки *e*;

$C_{\text{int},\,e}$ — концентрация внутреннего стандарта в точке калибровки *e*;

i — индекс для обозначения конкретного N-нитрозоамина (см. таблицу 2);

e — индекс для обозначения точки калибровки в соответствии с 7.3 (например, 500 нг/мл; 100 нг/мл; 10 нг/мл; 5 нг/мл и холостой калибровочный раствор);

int — индекс для внутреннего стандарта.

Калибровочная функция должна быть линейной в диапазоне измеренных концентраций пробы.

Определяют калибровочную функцию для каждого *i*-го N-нитрозоамина с помощью линейной регрессии по формуле

$$A_i/A_{\text{int}} = a_i \cdot C_i/C_{\text{int}} + b_i, \quad (1)$$

где a_i — наклон калибровочной кривой *i*-го вещества;

b_i — точка пересечения калибровочной кривой *i*-го вещества оси ординат.

Примечание — Эта процедура калибровки является стандартным инструментом программного обеспечения для аналитической хроматографии.

8.9.2 Определение концентрации образца

Вводят в газовый хроматограф, соединенный с хемилюминесцентным детектором (6.11), соответствующие равные объемы образцов *s*, т. е. концентрата А (8.7.1), концентрата Б (8.7.2) и концентрата холостой пробы (8.8). Измерения проводят при условиях, обеспечивающих выполнение требований, указанных в 6.12.

Определяют для каждого образца *s* концентрацию каждого *i*-го N-нитрозоамина $C_{i,s}$ в миллиграммах на кубический сантиметр с использованием калибровочной функции, определенной в соответствии с 8.9.1, по формуле

$$C_{i,s} = \frac{A_{i,s}/A_{\text{Int},s} - b_i}{a_i} \cdot C_{\text{int},s}, \quad (2)$$

где $A_{i,s}$ — площадь пика *i*-го вещества в образце *s*;

$A_{\text{int},s}$ — площадь пика внутреннего стандарта в образце *s*;

b_i, a_i — коэффициенты калибровочной кривой *i*-го вещества (см. 8.9.1);

$C_{\text{int},s}$ — концентрация внутреннего стандарта в образце *s*.

Примечание — Метод количественного определения является стандартным инструментом программного обеспечения для аналитической хроматографии.

Анализ следует проводить не позднее 24 ч после приготовления концентратов. Если это невозможно, емкости с концентратами и калибровочными растворами укупоривают и хранят в темноте при температуре ниже 5 °С не более двух недель.

Если результат испытания образца выходит за пределы калибровочного диапазона, соответствующий концентрат следует разбавить этанолом (5.6). Если при этом пик внутреннего стандарта становится меньше предела количественного определения, калибровку следует проводить без учета внутреннего стандарта.

9 Обработка результатов

9.1 Общие положения

Для всех образцов *s* определяют массовые концентрации каждого *i*-го N-нитрозоамина и N-нитрозообразующего вещества и пересчитывают в концентрацию *i*-го N-нитрозоамина $C_{i,s}$, мг/кг материала образца, по формуле

$$C_{i,s}, \text{ мг/кг} = \frac{C_{i,s} \cdot V_s}{m_s}, \quad (3)$$

где $C_{i,s}$ — концентрация каждого *i*-го N-нитрозоамина, мг/см^3;

V_s — конечный объем концентрата, извлеченного из образца *s*, равный (0,9 ± 0,1) см^3;

m_s — масса образца *s*, кг (8.3.1 или 8.4.1).

Если измеренный сигнал детектора для N-нитрозоамина менее чем в три раза превышает фоновый шум, это вещество должно быть указано как «Не обнаружен» или «NN», а его концентрацию оценивают как 0.

Анализ холостого образца должен дать результат «Не обнаружен», за исключением внутреннего стандарта. В противном случае следует определить источник загрязнения и повторить все процедуры для достижения результата «Не обнаружен».

Проверяют, чтобы степень обнаружения внутреннего стандарта находилась в пределах 95^{+5}_{-30} %. Ее вычисляют путем деления площади пика внутреннего стандарта в концентрате холостой пробы (8.8) на площадь пика холостого калибровочного раствора (7.3).

Неидентифицированные пики N-нитрозоаминов, несмотря на меры предосторожности, указанные в 6.12, количественно определяют с помощью калибровочной функции N-нитрозоамина, который согласно таблице 2 элюируется из хроматографической колонки непосредственно перед неидентифицируемым N-нитрозоамином. Такой N-нитрозоамин регистрируют как «не идентифицирован, количественно определен как (ранее элюировавшийся) N-нитрозоамин».

Пример

Пик неидентифицированного N-нитрозоамина элюируется после NMOR перед NEPhA. Этот неидентифицированный N-нитрозоамин следует определять количественно с использованием функции калибровки NMOR и указывать как «неидентифицированный N-нитрозоамин, количественно определен как NMOR».

9.2 Изменчивость результатов и вычисление средних значений

9.2.1 Требования к изменчивости

Для каждого отдельного N-нитрозоамина при определении по 9.2.2 разность между отдельными результатами многократных определений не должна превышать предел повторяемости *r*.

Если все отдельные (единичные) результаты менее предела количественного определения, их считают воспроизводимыми, и следующее определение изменчивости не требуется.

9.2.2 Определение изменчивости

Изменчивость отдельных результатов многократных определений проверяют следующим образом:

- определяют разность между отдельными результатами *Diff* $D_{i,s}$ многократных определений $C_{i,s}$, мг/кг, путем вычитания наименьшего отдельного результата из наибольшего;
- определяют среднее значение отдельных результатов $x_{i,s}$;
- определяют предел повторяемости *r* для этих результатов (см. раздел 12), умножая среднее значение $x_{i,s}$ на коэффициент 0,48;
- сравнивают предел повторяемости *r* с разностью между отдельными результатами *Diff* $D_{i,s}$.

Если разность между результатами не превышает предела повторяемости *r*, их считают воспроизводимыми и действительными.

Если разность между результатами превышает предел повторяемости *r*, все результаты для рассматриваемых N-нитрозоаминов считают недействительными и проводят два других повторных испытания.

9.2.3 Вычисление среднего значения

Для вычисления среднего арифметического значения необходимо использовать достоверные результаты.

Если все результаты для N-нитрозоамина «Не обнаружен» или «NN», среднее значение принимают как «NN» и оценивают как 0.

Если среднее значение для N-нитрозоамина менее соответствующего предела количественного определения ПКО, среднее арифметическое значение принимают как «< ПКО» и оценивают как 0.

Примечание — В приложении А приведены примеры проверки изменчивости и вычисления среднего значения.

9.3 Общее количество N-нитрозоаминов, мигрирующих из образца А, проанализированных и зарегистрированных как N-нитрозоамины из концентрата А

После определения изменчивости и вычисления среднего значения (9.2) среднее значение для каждого отдельного N-нитрозоамина, определенное в образце А, следует скорректировать путем вычитания среднего значения для соответствующего N-нитрозоамина, мигрировавшего из образца Б, и определенного в концентрате Б (см. 9.4).

Общее количество N-нитрозоаминов, мигрирующих из пробы, вычисляют суммированием концентраций отдельных N-нитрозоаминов, определенных в концентрате А, после вышеуказанной поправки.

Если общее количество N-нитрозообразующих веществ превышает 0,1 мг/кг, результат необходимо подтвердить в соответствии с разделом 10. Если в соответствии с процедурами, описанными в разделе 10, отдельные результаты оказываются ложноположительными, концентрацию соответствующих N-нитрозообразующих веществ следует указывать как «Не обнаружено» или «NN», а результаты оценивают как 0.

Если NDiNA подтвержден и его значение превышает 0,1 мг/кг, это значение корректируют путем вычитания 0,1 мг/кг.

Затем пересчитывают общее количество N-нитрозообразующих веществ.

Примечание — В приложении А приведены примеры вычисления результатов.

9.4 Общее количество N-нитрозоаминов, мигрировавших из образца Б и проанализированных и зарегистрированных как N-нитрозоамины из концентрата Б

После определения изменчивости и вычисления среднего значения (9.2) общее количество N-нитрозоаминов, мигрирующих из образца, вычисляют суммированием средних значений отдельных N-нитрозоаминов, определенных в концентрате Б.

Если общее количество N-нитрозоаминов превышает 0,01 мг/кг, результат необходимо подтвердить в соответствии с разделом 10. Если в соответствии с процедурами, описанными в разделе 10, отдельные результаты оказываются ложноположительными, соответствующие N-нитрозоамины должны быть отмечены как «Не обнаружены» или «NN», а их результаты оценивают как 0. Затем пересчитывают общее количество N-нитрозоаминов.

10 Подтверждение N-нитрозоаминов

10.1 Если применимо, N-нитрозоамины, определенные в соответствии с 9.3 или 9.4, должны быть подтверждены одним из следующих методов:

а) помещают в прозрачную для УФ-излучения стеклянную колбу (6.9) равные количества оставшегося концентрата А и/или Б и калибровочного раствора (см. 7.3, по крайней мере, средней концентрации). Облучают растворы УФ-излучением параллельно (6.8). Доза облучения должна быть достаточной для обеспечения разложения N-нитрозоаминов таким образом, чтобы сигналы, связанные с N-нитрозоаминами, исчезли при последующем анализе или значительно уменьшились по сравнению с первоначальным анализом. Если пики не уменьшаются значительно в результате облучения, то конкретное идентифицированное вещество не является N-нитрозоамином.

Этот метод пригоден только для качественных оценок. Параллельное воздействие градуировочного раствора обеспечивает эффективность источника излучения и требуемую дозу. Облучения в течение 3 ч УФ-лампой, обеспечивающей длину волны 365 нм и мощность 8 Вт, обычно достаточно для значительного разложения присутствующих N-нитрозоаминов;

б) используют другую хроматографическую колонку с неподвижной фазой другой полярности;

в) используют масс-спектрометрии высокого разрешения (см. приложение Б).

Рекомендуется подтверждать любые сомнительные результаты или результаты, не соответствующие опыту лаборатории или опыту изготовителя, методом по 10.1а), несмотря на то, что настоящий стандарт требует подтверждения N-нитрозоаминов только для результатов, выходящих за допустимые пределы (см. 9.3 и 9.4).

10.2 Если хотя бы один из вышеперечисленных методов показывает, что некоторые пики не связаны с N-нитрозоаминами, результат следует считать ложноположительным и его не учитывают.

11 Допустимые отклонения результатов испытания

11.1 Общие положения

Для получения скорректированного результата испытания вычитают соответствующее значение допустимого отклонения результатов испытания (11.2) из суммы N-нитрозообразующих веществ и суммы N-нитрозоаминов, определенных по 9.3 или 9.4, подтвержденных по разделу 10 и превышающих допустимые суммарные значения 0,1 и 0,01 мг/кг соответственно.

11.2 Допустимые отклонения (см. раздел 12)

Допустимое отклонение общего количества N-нитрозообразующих веществ — 0,1 мг/кг.
Допустимое отклонение общего количества N-нитрозоаминов — 0,01 мг/кг.

Примечание — Допустимые отклонения необходимы для учета присущей данному методу испытаний изменчивости.

12 Прецизионность

12.1 Общие положения

Для установления прецизионности метода испытывали по пять образцов в 37 лабораториях.
Полученные результаты подвергнуты статистическому анализу с учетом [1].
Описание образцов приведено в таблице 3.

Таблица 3 — Описание образцов для валидационного эксперимента

Номер образца	Код изготовителя	Образец
1	A	Латексная соска для бутылочки
2	B	Латексная соска-пустышка
3	C	Латексная соска-пустышка
5	C	Латексная соска-пустышка

Лаборатории не были проинформированы о кодах изготовителя.
Ампула, содержащая исходный калибровочный раствор N-нитрозоаминов в соответствии с таблицей 2, была направлена в качестве образца 4 для использования при калибровке.
Лабораториям были присвоены случайным образом идентификационные номера (лаборатория 1, лаборатория 2 и т. д.).
Объем испытаний для каждой лаборатории составлял 16 анализов.

12.2 Первичный статистический анализ — N-нитрозообразующие вещества

Получено 27 результатов испытаний. Результаты шести лабораторий были отклонены из-за очевидных нарушений.
Все результаты определения N-нитрозообразующих веществ (после получения N-нитрозоаминов) проверили на наличие грубых ошибок с использованием критерия выбросов Граббса. Отклонены все результаты одной лаборатории и по одному результату двух других лабораторий.
Общие средние значения суммы N-нитрозообразующих веществ (после устранения грубых ошибок) и пределы воспроизводимости приведены в таблице 4.

Таблица 4 — Общие средние значения и расчеты общего N-нитрозообразующих веществ

Номер образца	Общее среднее значение, мг/кг	Предел воспроизводимости R, мг/кг
1	0,096	0,101
2	0,134	0,267
3	0,065	0,110
5	0,066	0,115

Результаты, на которых основаны соответствующие средние значения, показали нормальное распределение для каждого образца.
Предел воспроизводимости R (см. [2]) определяли как $2{,}8 \cdot S_R$, где S_R — стандартное отклонение воспроизводимости.
Допустимое отклонение общего количества N-нитрозообразующих веществ, составляющее 0,1 мг/кг, сравнимо с пределами воспроизводимости (см. таблицу 4).

12.3 Предел воспроизводимости для N-нитрозообразующих веществ

Общие средние значения общего количества N-нитрозообразующих веществ, определенные с использованием различных измерительных систем, приведены в таблице 5.

Таблица 5 — Общие средние значения общего количества N-нитрозообразующих веществ в зависимости от измерительной системы

Номер образца	Общее среднее значение, мг/кг		
	Газовая хроматография с хемилюминесцентным детектором (ГХ-ТЭА)	Жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС)	Газовая хроматография с тандемной масс-спектрометрией (ГХ-МС/МС)
1	0,109	0,087	0,086
2	0,168	0,102	0,128
3	0,079	0,040	0,107
5	0,074	0,043	0,113

Подробное изучение результатов каждой процедуры показало нормальное распределение для всех четырех образцов только при использовании газовой хроматографии с хемилюминесцентным детектором. Жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией и газовая хроматография с тандемной масс-спектрометрией показали нормальное распределение только для образца номер 1. Пределы воспроизводимости, вычисленные для нормально распределенных данных, приведены в таблице 6.

Таблица 6 — Пределы воспроизводимости для общего количества N-нитрозообразующих веществ в зависимости от измерительной системы

Номер образца	Предел воспроизводимости, мг/кг		
	ГХ-ТЭА	ЖХ-МС/МС	ГХ-МС/МС
1	0,060	0,110	0,146
2	0,244	—	—
3	0,064	—	—
5	0,100	—	—

Пределы воспроизводимости до 0,1 мг/кг подтверждают допустимое отклонение 0,1 мг/кг для N-нитрозообразующих веществ. Поэтому результаты, полученные с использованием ГХ-ТЭА, для образцов с номерами 1, 3 и 5 подтвердили прецизионность метода.

Результаты для образца номер 2 требовали дальнейшего изучения.

Для этого были рассмотрены индивидуальные N-нитрозообразующие вещества. В таблице 7 показаны пределы воспроизводимости для отдельных обнаруженных N-нитрозообразующих веществ.

Таблица 7 — Пределы воспроизводимости для отдельных N-нитрозообразующих веществ

Вещество	Предел воспроизводимости, мг/кг, для образца			
	1	2	3	5
NDMA	0,069	0,014	0,012	0,018
NDEA	0,045	—	0,015	0,022
NDBA	—	—	—	—
NDiBA	0,056	—	—	—
NDBzA	0,027	0,018	0,029	0,028
NDiNA	—	0,242	0,066	0,070

Высокий предел воспроизводимости для суммы N-нитрозообразующих веществ из образца номер 2, возможно, связан с высоким пределом воспроизводимости для NDiNA, особенно на фоне значительно более низких пределов воспроизводимости для других N-нитрозообразующих веществ.

12.4 Предел воспроизводимости для NDiNA

Предел воспроизводимости для NDiNA из образцов с номерами 2, 3 и 5 рассчитан относительно среднего значения, определенного методом с использованием ТЭА, установлена следующая зависимость:

$$R_{NDiNA} = 1{,}5287 \cdot C_{NDiNA} + 0{,}0105, \quad (4)$$

где R_{NDiNA} — предел воспроизводимости для NDiNA, мг/кг;
C_{NDiNA} — среднее значение концентрации NDiNA, мг/кг.

Коэффициент детерминации R^2 для такой зависимости равен 0,9944.

Изучение этой зависимости показывает, что в случаях, когда определенная концентрация NDiNA более 0,1 мг/кг, было бы более подходящим допустимое отклонение не менее 0,2 мг/кг.

Данный верификационный эксперимент демонстрирует необходимость корректировки, специфичной для нитрозоаминов, но только для применения при NDiNA более 0,1 мг/кг.

12.5 Базовый статистический анализ — N-нитрозоамины

Концентрацию N-нитрозоаминов, превышающую пределы количественного определения, обнаружила только небольшая часть лабораторий.

Результаты двух лабораторий были отклонены из-за выбросов.

Результаты метода с использованием ГХ-ТЭА показали нормальное распределение (см. таблицу 8).

Таблица 8 — Средние значения и пределы воспроизводимости определения общего содержания N-нитрозоаминов

Номер образца	Общее среднее значение, мг/кг	Предел воспроизводимости *R*, мг/кг
1	0,004	0,007
2	0,015	0,033
3	0,009	0,025
5	0,002	0,002

Хотя пределы воспроизводимости для образцов 2 и 3 несколько увеличены по сравнению с допустимым отклонением и только меньшинство лабораторий определили содержание N-нитрозоаминов выше предела количественного определения, сохранено допустимое отклонение 0,01 мг/кг.

Полученных данных недостаточно для статистического анализа отдельных N-нитрозоаминов.

12.6 Изменчивость между определениями

При определении N-нитрозообразующих веществ и N-нитрозоаминов по настоящему стандарту выполняют не менее двух повторных испытаний. Отдельные результаты многократных определений проверяют на изменчивость.

Для этого используют предел повторяемости *r*.

Предел повторяемости *r* — величина менее или равная абсолютному значению разности между двумя результатами, полученными в условиях повторяемости, с доверительной вероятностью 95 % (см. [2]).

Для получения предела повторяемости определяли для каждой пары повторного определения стандартное отклонение по отдельным результатам и умножали его на 2,8. Это было сделано для всех пар повторных определений после удаления выбросов. Результаты вычислений приведены в таблице 9.

Таблица 9 — Усредненные пределы воспроизводимости для повторных определений N-нитрозообразующих веществ и N-нитрозоаминов

Вещество	N-нитрозообразующие вещества		N-нитрозоамины	
	Число повторных определений	Средний предел повторяемости, мг/кг	Число повторных определений	Средний предел повторяемости, мг/кг
NDBA	9	0,000	2	0,001
NDBzA	56	0,004	17	0,003
NDEA	48	0,003	10	0,001
NDiBA	9	0,002	6	0,002
NDiNA	42	0,020	1	0,012
NDMA	57	0,005	18	0,001
NEPhA	3	0,000	3	0,000
NMOR	—	—	1	0,000
NMPhA	5	0,003	4	0,005
NPYR	1	0,000	1	0,000
Итоговое значение	230	0,007	63	0,002

Пределы повторяемости для NDiNA, как для N-нитрозообразующего вещества, так и для N-нитрозоамина, значительно выше, чем для других веществ, что еще раз подчеркивает необходимость введения корректировки, специфичной для нитрозоаминов.

Средние пределы повторяемости для N-нитрозообразующих веществ более чем в три раза выше, чем для N-нитрозоаминов.

Следует установить единые требования к изменчивости для многократных определений, а не отдельные требования к изменчивости для NDiNA, N-нитрозообразующих веществ и для N-нитрозоаминов.

Для этой цели средние пределы повторяемости из таблицы 9 были нанесены на график в зависимости от средних пределов повторяемости для N-нитрозообразующих веществ и для N-нитрозоаминов. Статистически значимая корреляция получена с использованием следующей формулы:

$$\overline{r} = 0{,}48 \cdot x_i, \tag{5}$$

где $\overline{r}$ — средний предел повторяемости, мг/кг;

x_i — среднее значение результатов определения N-нитрозообразующих веществ/N-нитрозоаминов, мг/кг.

Коэффициент детерминации R^2 для этой линейной зависимости равен 0,9312.

Умножение среднего значения многократных определений (как N-нитрозообразующих веществ, так и N-нитрозоаминов) на 0,48 обеспечивает надежный предел повторяемости для этих результатов. Полученное значение можно сравнить с разностью между отдельными результатами многократных определений. Разность между отдельными результатами должна быть меньше предела повторяемости.

Это было проверено для всех результатов повторных определений с использованием ГХ-ТЭА, из которых 91 % имели разность между двумя отдельными результатами менее соответствующих пределов повторяемости.

13 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

- обозначение настоящего стандарта;
- место проведения испытания;
- массу образца, используемую для каждого определения;

- информацию о разрезании баллончиков сосок, если она отличается от процедуры по 8.2, и причины этих отличий;
- информацию об исключении стадии кипячения (8.3.1 и 8.4.1) для готовых к употреблению изделий, если применимо;
- результаты определения отдельных N-нитрозоаминов и достигнутые лабораторией пределы количественного определения;
- способ подтверждения N-нитрозоаминов, если применимо (10.1);
- информацию о применении специфических корректировок и/или допустимого отклонения результатов испытания по N-нитрозоамину, если применимо;
- любое отклонение от процедур, указанных в настоящем стандарте, и способ их подтверждения (калибровка, пределы количественного определения и степень обнаружения для внутреннего стандарта и для каждого испытанного N-нитрозоамина);
- фотографии, идентифицирующие образец, не соответствующий установленным требованиям.

Примечание — Пример вычисления и оформления результатов приведен в приложении А.

Приложение А
(справочное)

Пример вычисления результатов и протокола испытаний

А.1 Общие положения

В настоящем приложении приведен пример обработки и вычислений результатов испытания.

Пример создан искусственно, чтобы включить большинство вариантов, которые могут возникнуть при испытании и требуют особого внимания.

А.2 Пример проверки изменчивости и вычисления среднего значения результатов испытания

Требования к проверке изменчивости и вычислению среднего значения результатов испытания, полученных в соответствии с разделом 8, изложены в разделе 9. В таблицах А.1 и А.2 показаны шаги, которые должны быть предприняты для образцов А и Б соответственно. Они не предназначены для включения в протокол испытаний.

В таблицах А.1 и А.2 (графа «N-нитрозоамин») перечислены N-нитрозоамины, указанные в 7.2 (см. таблицу 2), как идентифицированные. При необходимости повторного определения N-нитрозоаминов результаты также были включены в таблицы, в данном примере как NDMA (2) и NDBA (2). Определения NDEA (для образца А) и NDBA (для образца Б) не прошли проверку изменчивости, и поэтому определение повторяли. «NMOR» — результат определения N-нитрозоамина, который не может быть идентифицирован и который был количественно определен как NMOR на основании времени его элюирования между NMOR и NEPhA (см. 9.1).

Пределы количественного определения (ПКО), достигнутые лабораторией для измеренных N-нитрозоаминов, приведены в графе «ПКО». Минимальные требования к пределам количественного определения приведены в 7.2 (таблица 2).

В примере проведены повторные определения *D1* и *D2*; в таблицах перечислены результаты каждого определения. Дополнительные определения потребовали бы дополнительных граф. Результаты «Не обнаружен» или «NN» считают как 0 (9.1) в следующих вычислениях.

Вычисления выполнены отдельно для каждого N-нитрозоамина. Графы «Среднее», «Разность *D*» и «*r*» используют для проверки изменчивости результатов *D*1 и *D*2 в соответствии с 9.2.2, где «среднее» означает среднее арифметическое, «*diff D*» — разность между самым высоким и самым низким результатами определений, «*r*» — предел повторяемости, который в 0,48 раза больше их «среднего».

Если *Diff D* менее или равен *r*, то проверка изменчивости пройдена и результаты этого определения действительны. Если оба результата менее ПКО, они достоверны и определение изменчивости не требуется.

Действительные результаты используют для определения окончательных средних значений, которые перечислены в графе «Окончательное среднее». «Недействительный» обозначает результат, который не прошел проверку изменчивости. Ниже приведены результаты повторного анализа, которые прошли проверку изменчивости и являются достоверными. Окончательные средние значения, равные 0 или менее ПКО, указаны как «NN» и «< ПКО» соответственно.

Окончательные средние значения используют для дальнейших расчетов, как указано в А.3.

Таблица А.1 — Пример проверки изменчивости и вычисления среднего значения для образца А: определение N-нитрозоаминов после нитрозирования

В миллиграммах на килограмм

N-нитрозоамин	ПКО	*D1*	*D2*	Среднее	*Diff D*	*r*	Окончательное среднее
NDMA	0,001	0,0260	0,0520	0,0390	0,0260	0,0187	Недействительный
NDMA (2)	0,001	0,0240	0,0360	0,0300	0,0120	0,0144	0,0300
NDEA	0,001	0,0006	0,0009	0,0008	—	—	< ПКО
NDPA	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NDiBA	0,001	NN	0,0009	0,0005	—	—	< ПКО
NDBA	0,001	0,0081	0,0052	0,0067	0,0029	0,0032	0,0067
NPIP	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NPYR	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NMOR	0,005	0,0150	0,0230	0,0190	0,0080	0,0091	0,0190
NMPhA	0,005	NN	NN	0	—	—	NN

Окончание таблицы А.1

В миллиграммах на килограмм

N-нитрозоамин	ПКО	*D1*	*D2*	Среднее	*Diff D*	*r*	Окончательное среднее
NEPhA	0,005	NN	NN	0	—	—	NN
NDiNA	0,005	0,1960	0,1560	0,1760	0,0400	0,0845	0,1760
NDBzA	0,005	0,0050	0,0060	0,0055	0,0010	0,0026	0,0055
«NMOR»	0,001	0,0560	0,0670	0,0615	0,0110	0,0295	0,0615

Таблица А.2 — Пример проверки изменчивости и вычисления среднего значения для образца Б: определение N-нитрозоаминов

В миллиграммах на килограмм

N-нитрозоамин	ПКО	*D1*	*D2*	Среднее	*Diff D*	*r*	Окончательное среднее
NDMA	0,001	0,0009	0,0013	0,0011	0,0004	0,0005	0,0011
NDEA	0,001	0,0001	0,0002	0,0002	—	—	< ПКО
NDPA	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NDiBA	0,001	0,1400	0,1500	0,1450	0,0100	0,0696	0,1450
NDBA	0,001	0,0100	0,0200	0,0150	0,0100	0,0072	Недействительный
NDBA (2)	0,001	0,0010	0,0009	0,00095	0,0001	0,0004	< ПКО
NPIP	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NPYR	0,001	NN	NN	0	—	—	NN
NMOR	0,005	0,0070	0,0100	0,0085	0,0030	0,0041	0,0085
NMPhA	0,005	NN	NN	0	—	—	NN
NEPhA	0,005	NN	NN	0	—	—	NN
NDiNA	0,005	NN	NN	0	—	—	NN
NDBzA	0,005	0,0030	0,0040	0,0035	0,0010	0,0017	< ПКО
«NMOR»	0,001	0,0020	0,0030	0,0025	0,0010	0,0012	0,0025

А.3 Вычисления и таблица результатов для протокола испытаний

Информация, приведенная в таблице А.3, необходима для однозначного и четкого приведения результатов в протоколе испытаний.

В протоколе испытаний должны быть перечислены определенные N-нитрозоамины, пределы количественного определения, достигнутые лабораторией, и количество проведенных определений. Он должен подтвердить или продемонстрировать, что результаты были подвергнуты проверке изменчивости по 9.2.2 и являются действительными.

Информация и результаты вычислений, приведенные в таблице А.3, и, если применимо, информация из сносок должны быть частью протокола испытаний.

В таблице А.3 приведены этапы, необходимые для получения результатов для N-нитрозообразующих веществ и для N-нитрозоаминов, которые поясняются ниже.

Вычисления выполняют отдельно для каждого N-нитрозоамина. Результаты, представленные как «NN» и «< ПКО», оценивают как 0.

Окончательные средние значения из таблицы А.1 (образец А) корректируют путем вычитания окончательных средних значений N-нитрозоаминов из таблицы А.2 (образец Б) для получения результатов для N-нитрозообразующих веществ. В протоколе испытаний должно быть указано, были ли значения результатов, приведенные для отдельных N-нитрозообразующих веществ, скорректированы путем вычитания результатов для N-нитрозоаминов.

Результаты для N-нитрозоаминов представляют собой окончательные средние значения из таблицы А.2 (образец Б). Для получения общего количества N-нитрозообразующих веществ суммируют результаты для отдельных

N-нитрозообразующих веществ. Для получения общего количества N-нитрозоаминов суммируют результаты для отдельных N-нитрозоаминов.

Если общие значения N-нитрозообразующих веществ и/или N-нитрозоаминов превышают 0,1 мг/кг и 0,01 мг/кг соответственно или если их достоверность вызывает сомнения, то N-нитрозоамины, определенные в образце А или Б в соответствии с разделом 10, должны быть добавлены для подтверждения. Информация о подтверждении использованной для этого процедуры должна быть указана в протоколе испытаний.

В данном примере в образцах А и Б подтверждены все N-нитрозоамины, за исключением NDiBA. Соответственно результаты определений NDiBA, приведенные в таблицах А.1 и А.2, были интерпретированы как ложноположительные, а результат приведен в таблице А.3 как «NN» (см. 9.4).

Примечание — Информацию о ложноположительных результатах определения допускается указывать в протоколе испытаний.

В примере содержание N-нитрозообразующего вещества NDiNA превышает 0,1 мг/кг (0,176 мг/кг — в таблице А.1) и подтверждено в соответствии с разделом 10 (см. выше). Следовательно, результат NDiNA скорректирован путем вычитания 0,1 мг/кг (см. 9.3), после корректировки получают 0,076 мг/кг (таблица А.3). Информацию о данной корректировке приводят в протоколе испытаний.

В протоколе испытаний для всех N-нитрозообразующих веществ и для всех N-нитрозоаминов должны быть указаны результаты после подтверждения и/или корректировки и полученные суммы.

Если общие значения для N-нитрозообразующих веществ и/или N-нитрозоаминов превышают 0,1 мг/кг и 0,01 мг/кг соответственно, следует применять допустимые отклонения результатов испытания в соответствии с разделом 11. В протоколе испытаний должны быть указаны результаты до и, если применимо, после применения допустимого отклонения результатов испытания.

Таблица А.3 — Пример проверки изменчивости и вычисления среднего значения определения N-нитрозоаминов для образца Б

В миллиграммах на килограмм

Определенный N-нитрозоамин	ПКО	Содержание N-нитрозообразующего вещества* после вычета эквивалентного N-нитрозоамина	Содержание N-нитрозоамина*
NDMA	0,001	0,029	0,001
NDEA	0,001	< ПКО	< ПКО
NDPA	0,001	NN	NN
NDiBA	0,001	NN	NN
NDBA	0,001	0,008	< BG
NPIP	0,001	NN	NN
NPYR	0,001	NN	NN
NMOR	0,001	0,011	0,009
NMPhA	0,005	NN	NN
NEPhA	0,005	NN	NN
NDiNA	0,005	0,076**	NN
NDBzA	0,005	0,006	< ПКО
«NMOR»***	0,001	0,059	0,003
Сумма		0,187	0,012
Результат после применения допустимого отклонения		0,087	0,002
Результаты определены по настоящему стандарту [10.1, метод а)].			

* Повторные определения, действительность по 9.2.2 подтверждена.

** Результат для N-нитрозообразующего вещества NDiNA после корректировки, характерной для NDiNA.

*** «NMOR» не идентифицирован, количественно определен как NMOR.

Приложение Б
(справочное)

Альтернативные методы определения

Б.1 Общие положения

Для определения N-нитрозоаминов и N-нитрозообразующих веществ, мигрирующих из сосок, допускается использовать методы жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС) и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС).

Методы можно использовать для целей настоящего стандарта при условии, что они прошли валидацию по методу настоящего стандарта для каждого испытуемого вещества.

Установлено, что вышеупомянутые альтернативные методы имеют высокую изменчивость, поскольку анализы включают большее количество N-нитрозоаминов и NDiNA.

Подходящие наборы условий испытаний приведены в Б.2 и Б.3.

Б.2 Жидкостная хроматография (ЖХ)

Этанол не пригоден в качестве растворителя для стандартных растворов N-нитрозоаминов (раздел 7) для ЖХ. Для стандартных растворов применяют другие растворители, например метанол. Серию концентраций калибровочных растворов N-нитрозоамина можно приготовить разбавлением испытательными растворами искусственной слюны (5.5). Такие растворы стабильны не более 1 сут.

Приведенные ниже условия ЖХ являются только примером, подходящим для определения N-нитрозоаминов при использовании масс-спектрометрических детекторов:

- хроматографическая колонка: например, Waters ACQUITY UPLC HSS T3 1,8 мкм; 2,1×100 мм;
- подвижные фазы: А — 0,1 %-ный раствор HCOOH в воде;
Б — 0,1 %-ный раствор HCOOH в ацетонитриле;
- температура термостата колонки: 30 °С;
- объем ввода: 50 мкл;
- подходящий градиент ВЭЖХ: см. таблицу Б.1.

Таблица Б.1 — Профиль градиента при заданных условиях ВЭЖХ

Время, мин	Скорость потока, мкл/мин	Состав подвижной фазы, %	
		А	Б
0	300	98	2
1,5	300	98	2
2,5	300	60	40
5,0	400	0	100
8,0	400	0	100
8,2	300	98	2
9,0	300	98	2

Условия ВЭЖХ определяются хроматографической колонкой. Они должны обеспечивать достаточное время удерживания для NDELA (при необходимости) и NDMA.

Б.3 Условия тандемной масс-спектрометрии

Для определения N-нитрозоаминов с помощью жидкостной хроматографии пригодны следующие условия МС/МС и MRM:

- источник ионов: химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI);
- полярность: положительная;
- минимальное разрешение: 0,7 Да;
- подходящие MRM-переходы: см. таблицу Б.2.

Таблица Б.2 — Подходящие MRM-переходы при заданных условиях МС/МС

Соединение	Масса Q1, *m/z*	Масса Q3, *m/z*	
NDMA	75,0	42,9	58,0
NDEA	103,1	75,0	47,0
NPIP	115,1	69,1	40,9
NMOR	117,0	86,9	85,9
NDPA/NDiPA	131,1	89,1	43,1
NDELA	135,0	104,0	74,0
d8-NDELA	143,0	111,0	80,2
NDBA/NDiBA	159,1	57,1	103,0
d6-NDMA	81,0	46,1	64,1
NDBzA	226,9	91,1	65,1
NEPhA	150,9	77,1	51,1
NMPhA	136,9	66,0	107,1
NDiNA	299,0	57,1	173,1
Примечание — MRM-переходы для разных приборов могут различаться. Для количественного определения и идентификации N-нитрозоаминов необходимо выбрать подходящие переходы. Приведенные переходы были получены с использованием азота в качестве газа для соударений.			

Б.4 Подтверждение и количественное определение обнаруженных N-нитрозоаминов

N-нитрозоамины, обнаруженные с помощью МС/МС детектора, подтверждаются их определенным соотношением обнаруженных ионов. Поэтому относительные интенсивности сигналов не менее трех ионов, выраженные в процентах от интенсивности наиболее интенсивного иона, должны совпадать с относительными интенсивностями для калибровочных растворов, измеренных при сопоставимых концентрациях и при тех же условиях. Следует соблюдать допуски, указанные в таблице Б.3.

Таблица Б.3 — Допустимые отклонения относительной интенсивности ионов

Относительная интенсивность, % интенсивности наиболее интенсивного иона	Допустимое отклонение, %
От 50	± 20
От 20 до 50 включ.	± 25
От 10 до 20 включ.	± 30
До 10 включ.	± 50

Допустимые отклонения указаны в таблице Б.3. Если эти значения достигнуты, следует учитывать соотношение интенсивностей более трех ионов. Вещества являются идентичными N-нитрозоаминами только в том случае, если соотношения интенсивностей всех ионов образца и стандарта совпадают. В противном случае это разные вещества, даже если их времена удерживания кажутся одинаковыми. Соответствующие результаты являются ложноположительными, поэтому их не учитывают при вычислениях.

Для количественного определения подтвержденных N-нитрозоаминов следует учитывать интенсивность иона с самой низкой относительной интенсивностью по сравнению со стандартом. Калибровочные функции должны быть линейными в диапазоне концентраций образца.

Если результаты определения общего количества N-нитрозообразующих веществ и/или общего количества N-нитрозоаминов превышают общие допустимые значения, они должны быть подтверждены в соответствии с разделом 10.

Библиография

[1] ISO 5725-2:2019 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений [Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method]

[2] ISO 5725-6:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике [Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 6: Use in practice of accuracy values]

УДК 678.71:543.05:006.354 МКС 83.140.99
97.190 NEQ

Ключевые слова: предметы ухода за детьми, соски детские, методы определения N-нитрозоаминов и нитрозообразующих веществ

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 14.07.2023. Подписано в печать 19.07.2023. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,95.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru