ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**ГОСТ ISO 15819-2016**

# ПРОДУКЦИЯ КОСМЕТИЧЕСКАЯ

**Обнаружение и определение содержания N-нитрозодиэтаноламина (NDELA) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (HPLC-MS-MS)**

# ПРАДУКЦЫЯ КАСМЕТЫЧНАЯ

**Выяўленне і вызначэнне змяшчэння N-нітрозадыэтаноламіну (NDELA) метадам высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі з тандэмнай мас-спектраметрыяй (HPLC-MS-MS)**

**(ISO 15819:2014, IDT)**

**Издание официальное**

**Госстандарт**
**Минск**

gost.e-ecolog.ru

## Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

**Сведения о стандарте**

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 88-П от 25 мая 2016 г.)

За принятие стандарта 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 | Минэкономики Республики Армения |
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Казахстан | KZ | Госстандарт Республики Казахстан |
| Кыргызстан | KG | Кыргызстандарт |
| Российская Федерация | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 15819:2014 Cosmetics — Analytical methods — Nitrosamines. Detection and determination of N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in cosmetics by HPLC-MS-MS (Обнаружение и определение содержания N-нитрозодиэтаноламина (NDELA) в косметической продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (HPLC-MS-MS)).

Международный стандарт разработан техническим комитетом по стандартизации ISO/TC 217 «Косметика» Международной организации по стандартизации (ISO).

В стандарт внесено следующее редакционное изменение: наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования международного стандарта с целью применения обобщающего понятия в наименовании стандарта в соответствии с ГОСТ 1.5-2001.

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий государственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на международные стандарты актуализированы.

Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

© Госстандарт, 2016

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

5 ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 19 августа 2016 г. № 66 непосредственно в качестве государственного стандарта Республики Беларусь с 1 апреля 2017 г.

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 (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.*

## Введение

Окружающая среда, продукты питания, средства личной гигиены могут выступать в качестве источников N-нитрозаминов, с которыми непосредственно взаимодействует человек. В ходе исследований было выявлено, что N-нитрозамины проявляют потенциальную канцерогенную активность в отношении некоторых видов животных, в связи с чем минимизация воздействия N-нитрозаминов на организм человека признана одной из важнейших целей сохранения здоровья людей. Среди N-нитрозаминов N-нитрозодиэтаноламин (NDELA) признан в качестве потенциального загрязнителя косметической продукции.

В связи с этим было разработано несколько аналитических методов обнаружения и определения присутствия NDELA в косметической продукции. Примерами таких методов являются метод газовой хроматографии/термоэнергетический анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании либо с фотолизом и колориметрическим количественным определением, либо с последующим масс-спектрометрическим определением. В последнем методе применяются новейшие технологии, обеспечивающие максимальную точность определения NDELA, позволяющие минимизировать риск искусственного образования NDELA в анализируемой продукции и провести точное количественное определение.

Данный метод включает в себя обнаружение и определение содержания N-нитрозодиэтаноламина (NDELA) в косметической продукции и ингредиентах косметической продукции при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

# ПРОДУКЦИЯ КОСМЕТИЧЕСКАЯ
# Обнаружение и определение содержания N-нитрозодиэтаноламина (NDELA) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (HPLC-MS-MS)

# ПРАДУКЦЫЯ КАСМЕТЫЧНАЯ
# Выяўленне і вызначэнне змяшчэння N-нітрозадыэтаноламіну (NDELA) метадам высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі з тандэмнай мас-спектраметрыяй (HPLC-MS-MS)

# Cosmetics
# Detection and determination of N-nitrosodiethanolamine (NDELA) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS-MS)

**Дата введения — 2017-04-01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод обнаружения и определения содержания N-нитрозодиэтаноламина (NDELA) в косметической продукции и сырье для ее изготовления.

Данный метод не применяется для обнаружения и/или определения содержания других нитрозаминов, а также для обнаружения и/или определения содержания NDELA в продукции, не являющейся косметической продукцией или сырьем для ее изготовления.

Если загрязнение продукции NDELA возможно посредством ингредиентов, либо образование NDELA возможно в результате смешения ингредиентов, метод может применяться для количественного определения NDELA. Вместе с тем данный метод не является стандартным для косметической продукции, поскольку область применения настоящего стандарта охватывает большое количество разнообразной косметической продукции и может потребоваться адаптация данного метода к некоторым матрицам (см. ISO 12787).

В связи с этим стандарты, устанавливающие альтернативные методы определения нитрозаминов в косметической продукции, разрабатываются отдельно. Другие методы могут быть применены при условии, что они прошли проверку на способность обнаруживать NDELA и валидированы в условиях воспроизводимости и количественного определения.

## 2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

ISO 12787:2011 Cosmetics — Analytical methods — Validation criteria for analytical results using chromatographic techniques (Косметика. Аналитические методы. Критерии валидации аналитических результатов с использованием методов хроматографии)

## 3 Сущность метода

Экстрагируют NDELA из проб косметической продукции при помощи воды, содержащей дейтерированный d8-NDELA, применяемый в качестве внутреннего стандарта (IS). Если пробы не диспергируются в воде, извлечение выполняют посредством твердофазной экстракции (ТФЭ, см. 6.3.1) с использованием картриджа С18, либо жидкостной экстракции, используя дихлорметан в качестве растворителя (извлечение ДХМ, см. 6.3.2). Экстракты анализируют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (HPLC-MS-MS).

**Издание официальное**

Идентификацию NDELA проводят при помощи молекулярного иона и двух диагностических ионов. Осуществляют количественное определение NDELA путем сравнения соотношения основных фрагментарных ионов NDELA и d8-NDELA с калибровочной кривой.

В соответствии с ISO 12787 отсутствие NDELA в пробе может быть подтверждено путем проведения дополнительного анализа. Меченый препарат с известным количеством определяемого вещества может быть приготовлен для оценки предела обнаружения NDELA в пробе.

Если наблюдается матричный эффект, оказывающий существенное воздействие на характеристики метода (чувствительность, точность и т. д.) при испытании определенной косметической продукции, калибровка может проводиться методом стандартных добавок (см. ISO 12787).

## 4 Реактивы

При проведении анализа, если не указано иное, должны применяться реактивы только аналитической степени чистоты и только дистиллированная вода или вода первой степени чистоты в соответствии с ISO 3696:1987. Растворители должны быть пригодны для HPLC-MS анализа.

4.1 **Метанол** (MeOH), пригодный для HPLC-MS анализа.

4.2 **Этанол** (EtOH), пригодный для HPLC-MS анализа.

4.3 **Дихлорметан (ДХМ),** пригодный для HPLC-MS анализа.

4.4 **N-Нитрозодиэтаноламин**, известной степени чистоты, превышающей 95 %.

4.5 **d8-N-Нитрозодиэтаноламин**, известной степени чистоты, превышающей 95 %.

4.6 **Ацетат аммония ($CH_3COONH_4$),** аналитической степени чистоты, пригодный для HPLC-MS анализа.

4.7 **Раствор ацетата аммония концентрацией 1 моль/дм$^3$**, для приготовления 1,0 дм$^3$ раствора растворяют 77,08 г $CH_3COONH_4$ в 1,0 дм$^3$ воды.

**4.8 Элюент А: раствор $CH_3COONH_4$ концентрацией 2 ммоль/ дм$^3$**, для приготовления 1,0 дм$^3$ раствора берут 2 см$^3$ раствора $CH_3COONH_4$ концентрацией 1 моль/дм$^3$ (4.7) и доводят объем водой до 1 дм$^3$.

**4.9 Элюент В: раствор $CH_3COONH_4$ концентрацией 2 ммоль/дм$^3$ в смеси MeOH и воды, взятых в соотношении 90:10 (по объему)**, для приготовления 1,0 дм$^3$ элюента В берут 2 см$^3$ раствора $CH_3COONH_4$ концентрацией 1 моль/дм$^3$ (4.7) и доводят объем раствора до 1 дм$^3$ смесью MeOH и воды, взятых в соотношении 90:10 (v/v).

## 5 Аппаратура

Используется стандартное лабораторное оборудование, а также:

5.1 **Вихревой смеситель**.

5.2 **Система для проведения твердофазной экстракции**, система применяется для проведения твердофазной экстракции (ТФЭ) проб [например Vacmaster®[1]].

5.3 **Высокоскоростная центрифуга (максимальное ускорение 20000 g).**

**Примечание — Если применяется центрифуга с максимальным ускорением менее 20000 g, повышенное внимание должно быть уделено возможности засорения во время извлечения анализируемого вещества в процессе ТФЭ. При необходимости в процесс может быть включен дополнительный этап фильтрации через мембранный фильтр с размером пор 0,2 мкм.**

5.4 **Колонки для твердофазной экстракции**, например, Bakerbond® [1] C18–6 см$^3$, 500 мг обращенно-фазного октадецилсилана, привитого на силикагель, 40 мкм APD (средний диаметр частиц), 60Å.

5.5 **Оборудование для HPLC-MS-MS.**

5.5.1 **Аппаратура для жидкостной хроматографии высокого разрешения,** включающая: резервуар для элюирования, насос, систему ввода пробы в сочетании с тандемной масс-спектрометрией с электрораспылением, систему обработки данных, например, компьютер.

5.5.2 **Хроматографическая аналитическая колнка с обращенной фазой C18**, например, Spherisorb®[1] ODS II (октадецилсилан), с предколонкой, размеры данных колонок следующие:

- хроматографическая колонка:
  - длина: 100 мм;
  - внутренний диаметр: 2,1 мм;

[1] Vacmaster®, Bakerbond® и Spherisorb® являются примером оборудования, имеющегося в продаже. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой указанного продукта со стороны ISO.

- размер частиц: 5 мкм;

– предколонка:

- длина: 10 мм;
- внутренний диаметр: 2,1–3,0 мм;
- размер частиц: 5 мкм.

Использование предколонки не является обязательным. Если же предколонка используется, то желательно, чтобы ее внутренний диаметр был равен внутреннему диаметру разделительной колонки. Условия хроматографирования выбирают в зависимости от марки используемой в обращенно-фазной HPLC разделительной аналитической колонки.

## 6 Приготовление и хранение проб

### 6.1 Общие положения

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Большинство N-нитрозаминов являются потенциальными канцерогенами, необходимо предпринять все возможные меры предосторожности во избежание воздействия их на человека.**

Все операции, связанные с использованием N-нитрозаминов или их растворов, должны выполняться в хорошо вентилируемом вытяжном шкафу или ламинарном боксе.

Часто применяемые резиновые хирургические перчатки не обеспечивают достаточной защиты. Их необходимо снимать и выбрасывать сразу же после использования и не носить в течение длительного периода времени.

Любые растворы, содержащие N-нитрозамины, должны удаляться безопасным способом (например, помещаться в жестяные банки или ведра для опасных химических отходов).

N-нитрозодиэтаноламин должен храниться в защищенном от света месте при температуре 2 °С–8 °С.

Ультрафиолетовые (УФ) лучи разлагают N-нитрозамины, поэтому все растворы N-нитрозаминов (стандартные/экстракты) должны храниться таким образом, чтобы предотвратить их порчу и изменение состава.

Анализ методом HPLC-MS-MS проводят, как правило, в течение 30 мин после приготовления экстрактов проб. Если проведение испытания откладывают, следует проверить стабильность всех стандартных растворов и экстрактов.

### 6.2 Приготовление стандартных растворов

6.2.1 Готовят исходный раствор (A) NDELA, содержащий приблизительно 1,0 мг NDELA/см$^3$ этанола, соблюдая все правила техники безопасности, и хранят в защищенном от света месте при температуре ниже минус 18 °С. Записывают точную концентрацию раствора.

6.2.2 Готовят исходный раствор (d8A) d8-NDELA, содержащий приблизительно 1,0 мг d8-NDELA/см$^3$ этанола, соблюдая все правила техники безопасности, и хранят в защищенном от света месте при температуре ниже минус 18 °С. Записывают точную концентрацию раствора.

6.2.3 Готовят рабочие растворы (B, C, D, E и F) последовательным разбавлением исходного раствора (A). Все растворы хранят в защищенном от света месте при температуре 2 °С–8 °С.

| Рабочие растворы | Объем исходного или рабочего раствора | Объем воды | Конечная концентрация | Период стабильности |
|---|---|---|---|---|
| Рабочий раствор B | 100 мм$^3$ A | 900 мм$^3$ | 100,0 мкг/см$^3$ | 1 сут |
| Рабочий раствор C | 100 мм$^3$ B | 900 мм$^3$ | 10,0 мкг/см$^3$ | 1 сут |
| Рабочий раствор D | 100 мм$^3$ C | 900 мм$^3$ | 1,0 мкг/см$^3$ | 1 сут |
| Рабочий раствор E | 100 мм$^3$ D | 900 мм$^3$ | 100,0 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Рабочий раствор F | 100 мм$^3$ E | 900 мм$^3$ | 10,0 нг/см$^3$ | 1 сут |

Примечание — Пользователи данного стандарта могут регулировать фактический объем приготавливаемого раствора при условии, что будет обеспечена конечная концентрация.

6.2.4 Готовят рабочие растворы d8 (d8B и d8C), последовательно разбавляя исходный раствор (d8A). Все растворы хранят в защищенном от света месте при температуре 2 °С–8 °С.

| Рабочие растворы d8 | Объем исходного или рабочего раствора | Объем воды | Конечная концентрация | Стабильность |
|---|---|---|---|---|
| Рабочий раствор d8B | 20 мм$^3$ d8A | 20 см$^3$ | 1,0 мкг/см$^3$ | 1 сут |
| Рабочий раствор d8C | 200 мм$^3$ d8B | 1800 мм$^3$ | 100,0 нг/см$^3$ | 1 сут |

Примечание — Пользователи данного стандарта могут регулировать фактический объем приготавливаемого раствора при условии, что будет обеспечена конечная концентрация.

6.2.5 Готовят стандартные растворы путем разбавления рабочих растворов. Строят стандартную калибровочную кривую для диапазона концентраций от 1,0 нг/см$^3$ до 80,0 нг/см$^3$, используя не менее пяти из семи стандартных растворов, приведенных в таблице ниже. Стандартный раствор, концентрация которого соответствует установленным пределам количественного определения (или более низкой), также должен быть включен. Концентрация внутреннего стандарта d8-NDELA составляет 20 нг/см$^3$ в каждом растворе. Все растворы хранят в защищенном от света месте при температуре 2 °C–8 °C.

| Стандартные растворы | Объем рабочего раствора | Объем рабочего раствора d8C | Объем воды | Конечная концентрация | | Период стабильности |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | NDELA | d8-NDELA | |
| Стандартный раствор 1 | 800 мм$^3$ E | 200 мм$^3$ | - | 80,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 2 | 400 мм$^3$ E | 200 мм$^3$ | 400 мм$^3$ | 40,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 3 | 200 мм$^3$ E | 200 мм$^3$ | 600 мм$^3$ | 20,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 4 | 100 мм$^3$ E | 200 мм$^3$ | 700 мм$^3$ | 10,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 5 | 500 мм$^3$ F | 200 мм$^3$ | 300 мм$^3$ | 5,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 6 | 250 мм$^3$ F | 200 мм$^3$ | 550 мм$^3$ | 2,5 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |
| Стандартный раствор 7 | 100 мм$^3$ F | 200 мм$^3$ | 700 мм$^3$ | 1,0 нг/см$^3$ | 20 нг/см$^3$ | 1 сут |

Примечание 1 — В зависимости от чувствительности измерительных приборов стандартная калибровочная кривая и процедура приготовления проб могут быть адаптированы с целью сведения к минимуму возможного матричного эффекта (см. 6.3.3).

Примечание 2 — Пользователи данного стандарта могут регулировать фактический объем приготавливаемого раствора при условии, что будет обеспечена конечная концентрация.

### 6.3 Подготовка пробы

#### 6.3.1 Извлечение посредством твердофазной экстракции (ТФЭ)

Аккуратно взвешивают приблизительно 1,0 г пробы (записывают точную массу), добавляют 400 мм$^3$ рабочего раствора d8B и доводят объем водой до 20,0 см$^3$. Встряхивают полученную смесь в течение 15 мин. При необходимости используют проявляя надлежащую осторожность, ультразвуковую ванну и/или центрифугируют в течение 10 мин. Для исключения дальнейшего образования нитрозаминов ультразвуковую обработку следует минимизировать.

Примечание — В том случае, если метод HPLC-MS-MS обладает достаточной чувствительностью, может быть использована меньшая масса пробы и/или больший начальный объем воды для адаптации к определенным матрицам, а также для уменьшения возможности подавления ионизации вследствие совместного элюирования компонентов матрицы. При изменении начального объема воды необходимо, чтобы концентрация внутреннего стандарта оставалась стабильной как в стандартном растворе, так и в растворе пробы. В противном случае корректные вычисления осуществить невозможно.

Кондиционируют колонку C18 для твердофазной экстракции 3,0 см$^3$ метанола, а затем 3,0 см$^3$ воды при скорости потока приблизительно 3,0 см$^3$/мин. Колонка не должна высыхать.

Помещают около 5 $см^3$ пробы, подготовленной для экстрагирования, в вышеупомянутую колонку С18 для твердофазной экстракции, первые приблизительно 3 $см^3$ извлеченного раствора удаляют. Собирают в пробирку следующие извлекаемые приблизительно 2 $см^3$ раствора (при скорости потока приблизительно 3,0 $см^3$/мин).

При необходимости пробу готовят в трех повторностях.

**6.3.2 Альтернативный способ подготовки недиспергируемых в воде проб (извлечение ДХМ)**

Взвешивают аккуратно приблизительно 0,2 г пробы в пробирке для центрифугирования (записывают точную массу), добавляют 800 $мм^3$ рабочего раствора d8C и встряхивают в течение 1 мин. Добавляют 4 $см^3$ ДХМ и встряхивают в течение 1 мин. Добавляют 3,2 $см^3$ воды и встряхивают в течение 5 мин.

Примечание — В том случае, если метод HPLC-MS-MS обладает достаточной чувствительностью, может быть использована меньшая масса пробы и/или больший начальный объем воды для адаптации к определенным матрицам, а также для уменьшения возможности подавления ионизации вследствие совместного элюирования компонентов матрицы. При изменении начального объема воды необходимо, чтобы концентрация внутреннего стандарта оставалась стабильной как в стандартном растворе, так и в растворе пробы. В противном случае корректные вычисления осуществить невозможно.

Центрифугируют полученную смесь при максимально возможном ускорении (предпочтительно 20 000 g) в течение 5 мин. Порцию верхнего водного слоя используют для хроматографического анализа.

При необходимости фильтруют отобранный раствор, используя подходящий фильтр.

При необходимости пробу готовят в трех повторностях.

**6.3.3 Дальнейшее разбавление подготовленной пробы и стандартных растворов (в случае необходимости)**

Рекомендуется дополнительное разбавление экстрактов проб и (соответственно) стандартных растворов с целью сведения к минимуму потенциального воздействия совместного элюирования компонентов матрицы, которое может подавить ионизацию NDELA, ограничивая тем самым чувствительность метода. Разбавление экстрактов проб и стандартных растворов в воде рекомендуется в зависимости от чувствительности используемой в методе HPLC-MS-MS системы.

**6.3.4 Хранение проб**

При необходимости пробы можно хранить в защищенном от света месте при температуре ниже 8 °С.

## 7 Процедура

### 7.1 Общие положения

Анализируют содержание NDELA методом HPLC-MS-MS в полученном одним из двух способов экстракте.

### 7.2 Условия проведения хроматографии

Подвижная фаза: Элюент А — раствор $CH_3COONH_4$ концентрацией 2 ммоль/$дм^3$ в воде (4.8)
Элюент В — раствор $CH_3COONH_4$ концентрацией 2 ммоль/$дм^3$ в смеси MeOH и воды, взятых в соотношении 90:10 (по объему) (4.9).

| Интервал, мин | % А | % В |
|---|---|---|
| 0 – 1,5 | 97 | 3 |
| 1,5 – 1,6 | 97→0 | 3→100 |
| 1,6 – 4,0 | 0 | 100 |
| 4,0 – 4,1 | 0→97 | 100→3 |
| 4,1 – 6,0 | 97 | 3 |

Скорость потока: 0,4 $см^3$/мин
Объем выпрыскиваемой пробы: 20 $мм^3$
Температура термостата колонки: 30 °С
Хранение пробы: при температуре не выше 8 °С в защищенном от света месте (рекомендуется)

| | |
|---|---|
| Серия впрыскивания проб: | Каждая серия состоит, по меньшей мере, из пяти точек калибровки и, по меньшей мере, из одной контрольной пробы (представляющей собой стандартный раствор) на каждые 15 экстрактов проб (для серии, состоящей менее чем из 15 экстрактов проб, необходимо включить, как минимум, одну контрольную пробу). Обычно объем серии включает не более 20 экстрактов проб. Допускается применять серии, содержащие большее количество экстрактов проб, при условии, что была подтверждена достаточная стабильность ввода пробы. |

Может потребоваться адаптация условий хроматографирования для определенных матриц при условии надлежащей верификации (см. ISO 12787).

### 7.3 Условия HPLC-MS-MS

Ионизация электрораспылением с образованием положительно заряженных ионов.

Пример соответствующих параметров для тройного квадрупольного масс-спектрометра [такого как AB Sciex 5500® [2]].

| | |
|---|---|
| Параметры источника | |
| - Напряжение на распылителе (ISV) | 2800 В |
| - Потенциал декластеризации (DP) | 26 В |
| - Температура источника (TEM) | 650 °С |
| - Газ-распылитель (GS1) | 70 единиц (азот) |
| - Турбо газ (GS2) | 70 единиц (азот) |
| - Газовая завеса (CUR) | 30 единиц (азот) |
| Параметры анализатора | |
| - Режим сканирования | Мониторинг множественных процессов (MRM) [мониторинг двух выбранных процессов (SRM) для NDELA и один SRM для внутреннего стандарта] |
| - Разрешение Q1 | единица |
| - Разрешение Q3 | единица |
| - Диссоциированный газ, активированный столкновениями (CAD) | 12 единиц (азот) |

Характеристические ионы 135 (M+H), 104 и 74 (фрагментарные ионы) идентифицируют присутствие NDELA в пробе.

Количественное определение NDELA осуществляется путем использования отношения интенсивностей двух основных фрагментарных ионов 104 (из NDELA) и 111 [образующегося из 143 (M+H) иона d8-NDELA].

## 8 Вычисление результатов

### 8.1 Определение значения *R*

Вычисляют значение *R*, как отношение интенсивности иона 104, образующегося вследствие фрагментации иона NDELA (M+H), и интенсивности иона 111, образующегося вследствие фрагментации иона d8-NDELA (M+H) (см. рисунок А.2 как пример), для каждого впрыскивания пробы (точка калибровки, экстракт пробы и контрольная проба).

Вычисленные значения *R* используют для построения калибровочной кривой и определения концентрации, *c*, в соответствии с 8.4.

### 8.2 Калибровочная кривая

Строят калибровочную кривую, нанося на график концентрацию NDELA в стандартных растворах (см. 6.2.5) относительно значения *R* для данных растворов.

В случае количественного определения коэффициент корреляции калибровочной кривой должен быть выше или равен 0,990 (см. рисунок А.1 как пример).

[2] AB Sciex 5500 Triple Quad® является примером подходящего изделия, имеющегося в продаже, и соответствующие параметры могут зависеть от системы HPLC-MS-MS. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего документа и не является одобрением ISO этих изделий.

### 8.3 Процедура проверки достоверности и ее критерии

Относительные интенсивности двух ионов (104 и 74), обнаруженных в подготовленных пробах, выраженные в виде процента интенсивности наиболее интенсивного иона, должны соответствовать интенсивности стандартных растворов, используемых для калибровки, при соизмеримых концентрациях, измеренных в одинаковых условиях, с учетом допустимых отклонений, приведенных в таблице 1.

Достоверность результатов проверяют для каждого измерения пробы, при котором концентрация NDELA выше предела обнаружения (см. [1]).

Таблица 1 — Максимальные допустимые отклонения для относительных интенсивностей иона

| Относительная интенсивность (% интенсивности основного иона) | Относительный диапазон чувствительности |
|---|---|
| > 50 % | ±20 % |
| свыше 20 % по 50 % | ±25 % |
| Свыше 10 % по 20 % | ±30 % |
| ≤ 10 % | ±50 % |

### 8.4 Вычисление концентраций

Вычисляют концентрации, $c$, нг/см$^3$, экстрактов проб, используя калибровочную кривую и значения R, рассчитанные ранее для каждой пробы.

Концентрации NDELA проб неизвестного состава вычисляют по формуле (1):

$$W = c \times V/m, \quad (1)$$

где $W$ — массовая доля NDELA в пробе косметической продукции, нг/г;

$c$ — концентрация NDELA, определенная в экстрактах, нг/см$^3$;

$m$ — масса пробы косметической продукции, г;

$V$ — объем разбавителя косметической продукции, см$^3$ (пример: 20 см$^3$ для извлечения ТФЭ, 4 см$^3$ для извлечения ДХМ).

Примечание — Значения $V$ корректируют в случае использования отличающихся объемов (если это допускается, см. примечания в 6.3.1 и 6.3.2).

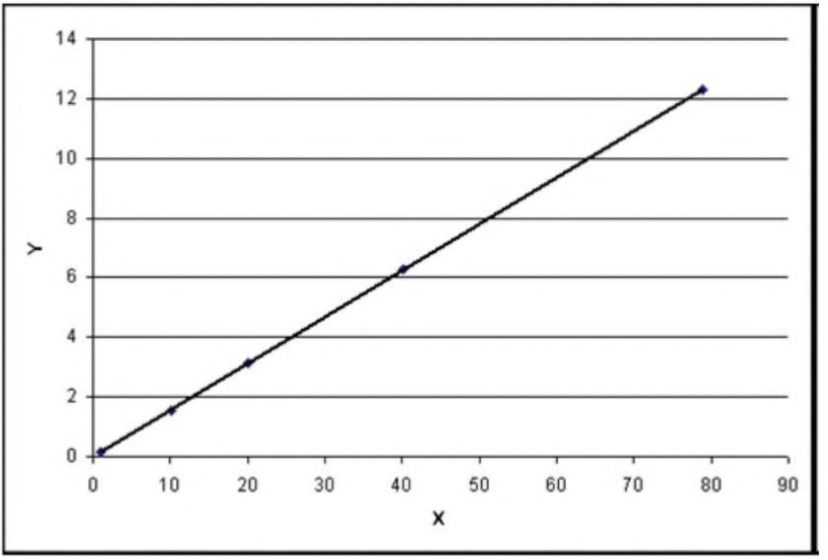
## 9 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать следующую информацию:

a) идентификационные данные испытуемой продукции;
b) идентификационные данные лаборатории, проводившей испытание;
c) ссылку на настоящий стандарт;
d) дату и способ отбора проб (если эта информация известна);
e) дату получения пробы лабораторией;
f) дату проведения испытания;
g) результаты испытания и единицы, в которых выражены эти результаты;
h) метод экстрагирования;
i) любые особенности, наблюдаемые при испытании;
j) все операции, не предусмотренные данным методом или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результат;
k) идентификационные данные и подпись специалиста, ответственного за подготовку протокола.

## Приложение А
## (справочное)

## Примеры калибровочной кривой и хроматограмм




Ось X — концентрация NDELA в стандартных растворах (нг/см$^3$);
Ось Y — значение *R*

Рисунок А.1 — Пример калибровочной кривой для NDELA

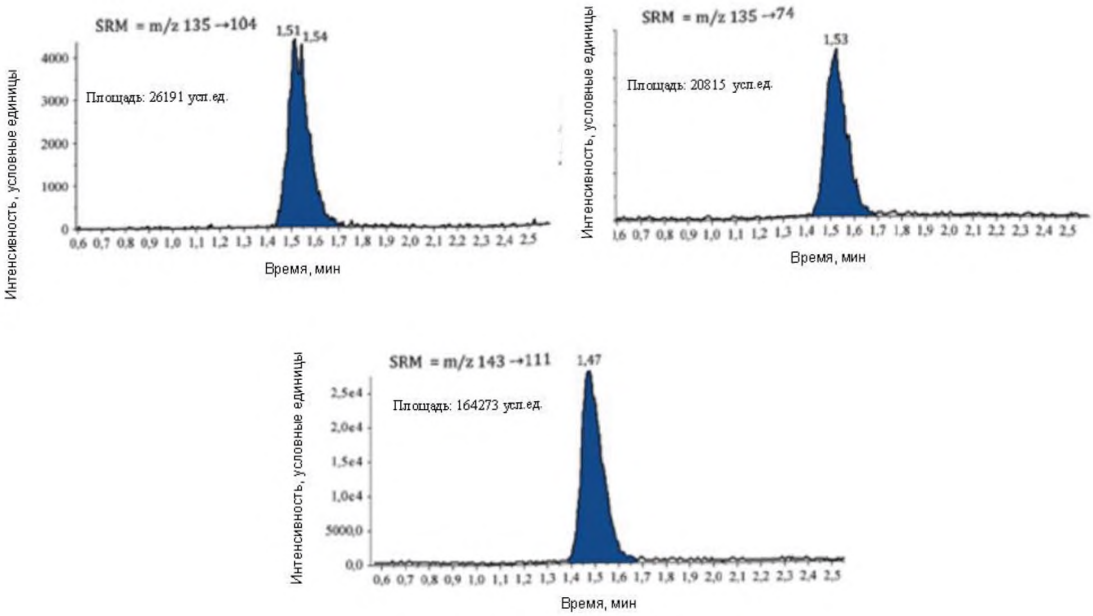



Рисунок А.2 — Примеры хроматограмм HPLC-MS-MS

Приведены хроматограммы, полученные при анализе стандартного раствора концентрацией 1,0 нг/см$^3$, соответствующей 20 нг/г эквивалента NDELA в матрице. Данные получены с использованием AB Sciex 5500 Triple Quad, с дополнительным 4-хкратным разбавлением экстракта пробы в воде перед анализом. Вверху слева: NDELA (SRM для количественного определения); вверху справа: NDELA (SRM для второй реакции); внизу: D8-NDELA (SRM для внутреннего стандарта).

## Библиография

[1] Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results
(Решение Комиссии от 14 августа 2002 г., реализующее Директиву Совета 96/23/EC относительно осуществления аналитических методов и толкования результатов)

## Приложение Д.А
## (справочное)

## Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту

Таблица Д.А.1 — Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту

| Обозначение и наименование международного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование межгосударственного стандарта |
|---|---|---|
| ISO 3696:1987 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний | IDT | ГОСТ ISO 3696-2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля |

УДК 665.58.014:543.544.5.068.7(083.74)(476) МКС 75.080 IDT

Ключевые слова: парфюмерно-косметическая продукция, N-нитрозамины, N-нитрозодиэтаноламин, хроматография, масс-спектроскопия

Ответственный за выпуск *Н. А. Баранов*

Сдано в набор 07.10.2016. Подписано в печать 21.10.2016. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 2,09 Уч.-изд. л. 0,78 Тираж 2 экз. Заказ 1917

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/303 от 22.04.2014
ул. Мележа, 3, комн. 406, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru