TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10069:2013
EN 12868 :1999

Xuất bản lần 1

ĐỒ DÙNG TRẺ EM – PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH SỰ GIẢI PHÓNG N-NITROSAMIN VÀ CÁC CHẤT CÓ KHẢ NĂNG CHUYỂN HÓA THÀNH N-NITROSAMIN TỪ NÚM TY VÀ TY GIẢ LÀM BẰNG ELASTOME HOẶC CAO SU

Child use and care articles – Methods for determining the release of N-Nitrosamines and N-Nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers

HÀ NỘI –2013

Lời nói đầu

TCVN 10069:2013 hoàn toàn tương đương với EN 12868:1999

TCVN 10069:2013 do Tiểu Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC 181/SC 1*Đồ dùng trẻ em*biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Núm ty cho ăn và ty giả được làm từ elastomehoặc cao su có thể giải phóng raN-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin (các chất nitrosatable).

Mục đích của tiêu chuẩn này là đưa ra phương pháp phân tích chi tiết để phát hiện và xácđịnh N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosaminđược giải phóng từ núm ty và ty giả để phù hợp với các yêu cầu của Chỉ thị 93/11/EEC.

Phương pháp được phê chuẩn bởi thử nghiệm liên phòng gồm mười hai phòng thí nghiệm thành viên. Các phép thử tập trung vào các sản phẩm giải phóng N-nitrosođimetylamin, N-nitrosođietylamin, N-nitrosođibutylamin và N-nitrosođibenzylamin. Kết quả cũng được sử dụng để xem xét dung sai phân tích (Điều **9**).

Đồ dùng trẻ em – Phương pháp xác định sự giải phóngN-Nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-Nitrosamin từ núm ty và ty giả làm bằng elastomehoặc cao su

Child use and care articles – Methods for determining the release of N-Nitrosamines and N-Nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn nàyqui định các phương pháp phân lập, phát hiện và xác định N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosaminđược giải phóng trong dung dịch nước bọt nhân tạo từ núm ty và ty giả làm bằng cao su và elastome.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm - Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

EN 45001, *General criteria for operation of testing laboratories* (Tiêu chí chung đối với vận hành các phòng thí nghiệm);

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Ty giả (soother)

Sản phẩm được sử dụng để đáp ứng nhu cầu bú mútvà làm trẻ không quấy.

CHÚ THÍCH Ty giả cũng được gọilà núm vú giả hoặc núm vú cao su của em bé.

3.2

Núm ty(teat)

Chi tiết được làm bằng elastomehoặc cao su của ty giả được thiết kế để trẻ ngậm vàomiệng. Theo cách khác nó có thể là núm ty cho ăn.

3.3

Núm ty cho ăn(feeding teat)

Núm vú thay thế mà khi được gắn vào bình chứa chất lỏng, cho phép trẻ nhận được chất lỏng bằng cách bú/mút.

3.4

Cao su(rubber)

Vật liệu có độ giãn cao kết hợp với khả năngphục hồi về lại hình dạng ban đầu trong một thời gian ngắn - vật liệu có tính co giãn cao.

3.5

Elastome

Vật liệu có cùng tính chất co dãn cao như cao su qua đó xác định được khoảng nhiệt độ, nhưng có cấu trúc hóa học khác với cao su.

3.6

N-nitrosamin

Chất mà trong công thức có nhómchức -N-N=O, thường được tạo thành bởi phản ứng của một amin (chủ yếu là amin thứ cấp) với một tác nhân nitrosat hóa, ví dụ nitrit, trong môi trường axit.

3.7

Các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin

Chất mà khi được giải phóng vàotrong dung dịch thử, được nitrosat hóa tạo thành N-nitrosamin ở các điều kiện qui định.

4 Nguyên tắc

N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin được chiết vào trong dung dịch muối nước bọt nhân tạo có chứa nitrit. Sau khi cô đặc, và trong trường hợp các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin, sau khi chuyển hóa, dung dịch thử cuối cùng được kiểm tra N-nitrosamin bằng sắc ký khí (GC), sử dụng detector phát quang hóa học hoặc kỹ thuật phân tích đã được công nhận phù hợp khác. Phép phân tích phải được thực hiện trong môi trường không có N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin bay hơi. N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin giải phóng được biểu thị dưới dạng N-nitrosamin giải phóng, tính bằng microgam trên kilôgam (µg/kg) mẫu.

CẢNH BÁO N-nitrosamin có thể gây nguy hiểm cho sức khỏe con người do độc tính của nó. Các phòng thí nghiệm phải chú ý đặc biệt đến các yêu cầu về sức khỏe và an toàn theo nội qui công việc.

5 Thuốc thử

5.1 Trừ khi có qui định khác, tất cả các hóa chất phải có độ tinh khiết phân tích và nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương ít nhất là Loại 3 theo TCVN 4851 (ISO 3696).

5.2 Natri hyđrocacbonat

5.3 Natri clorua

5.4 Kali cacbonat

5.5 Natri nitrit

CHÚ THÍCH Các thuốc thử này thể có hạn sử dụng chỉ khoảng hai năm.

5.6 Dung dịch axit clohyđric, c(HCl) = 0,1 mol/l.

5.7 Dung dịch natri hyđroxit, c(NaOH) = 0,1 mol/l.

5.8 Dung dịch muối nước bọt nhân tạo.

Hòa tan 4,2 g dung dịch natri hyđrocacbonat (**5.2**), 0,5 g natri clorua (**5.3**), 0,2 g kali cacbonat (**5.4**) và 30 mg natri nitrit (**5.5**) trong nước và pha loãng bằng nước thành 900 ml. Điều chỉnh đến pH 9,0 nếu cần bằng cách thêm nhỏ giọt dung dịch axit clohyđric (**5.6**) hoặc dung dịch natri hyđroxit (**5.7**). Chuyển hỗn hợp sang bình định mức 1 l và pha loãng bằng nước đến vạch định mức.

CHÚ THÍCH Dung dịch này có thể sử dụng trong không quá hai tuần khi được bảo quản trong chai kín và cóít nhất một khoảng khôngở trên chất lỏng.

5.9 Điclometan, đã chưng cất, đựng trong bình thủy tinh và đã kiểm tra sự có mặt của nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành nitrosamin (**7.5**).

5.10 Kieselguhr, để chiết lỏng-lỏng, bề mặt qui định 1 m^2/g, kích cỡ lỗ từ 3 000 nm đến 8 500 nm, kích cỡ hạt từ 150 µm đến 650 µm; được gia nhiệt đến 200 ^0C trong 1 h, để nguội và rửa bằng điclometan (**5.9**).

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng vật liệu tách khác, miễn là đã được công nhận như Kieselguhr.

5.11 n-hexan.

5.12 Dung dịch axit clohyđric, c(HCl) = 1 mol/l.

5.13 Dung dịch natri hyđroxit, c(NaOH) = 1 mol/l.

5.14 Nitơ tinh khiết.

5.15 Hạt chống sục.

5.16 Thủy tinh được nung chảyđể sản xuất cột (**6.3** và **6.4**).

5.17 Axeton, hoặc dung môi thích hợp khác.

5.18 Dung dịch N-nitrosamin chuẩn.

Chuẩn bị (các) dung dịch trong n-hexan (**5.11**) có lượng N-nitrosamin đã biết, được xác địnhtrong khoảng nồng độ từ 100 ng/ml đến 300 ng/ml. Ngoài ra, có thể sử dụng các dung dịch được chứng nhận khác để có được khoảng nồng độ tương tự.

Các N-nitrosamin sau đã được xác nhậncó liên quan đến núm ty và ty giả được làm từ cao su và vật liệu đàn hồi. Tuy nhiên, các liệt kê dưới đây không bao gồm toàn bộ các N-nitrosamin:

N-nitrosođimetylamin (NDMA);

N-nitrosođietylamin (NDEA);

N-nitrosođipropylamin (NDPA);

N-nitrosođibutylamin (NDBA);

N-nitrosopiperidin (NPIP);

N-nitrosopyrrolidin (NPYR);

N-nitrosomorpholin(NMOR);

N-nitrosođibenzyllamin (NDBzA);

N-nitrosođiisononylamin (NDiNA), có nghĩa N-nitroso 3,5,5-trimetylhexylamin;

N-nitroso N-metyl N-phenylamin (NMPhA);

N-nitroso N-etyl N-phenylamin (NEPhA).

Khi phát hiện được các N-nitrosamin khác, thì cácN-nitrosamin này phải phải được xác định và báo cáo theo quy định.

5.19 Dung dịch chuẩn nội N-nitrosođiisopropylamin (NDiPA), không chứa các N-nitrosamin khác, nồng độ khoảng 200 ng/ml trong axeton hoặc dung môi thích hợp khác (**5.17**).

CHÚ THÍCH N-nitrosamin bị khử dưới ánh sáng tử ngoại (UV). Không đểcác dịch chiết hoặc cácdung dịch chuẩn tiếp xúc với các nguồn ánh sáng như ánh sáng mặt trời, ánh sáng đèn huỳnh quang. Phải bọc mẫu và các dung dịch chuẩn bằng giấy nhôm và bảo quản trong bóng tối ở nhiệt độ dưới 5 °C.

5.20 Natri sulfat khan (dạng hạt) hoặc phễu lọc tách pha Whatman phù hợp.

Rửa trước 30 g natri sulfat bằng 25 ml điclometan (**5.9**).

5.21 Dung dịch amoniac, $c(NH_3)$ = 0,1 mol/l.

5.22 Cát, được rửa bằng axit và nung.

6 Thiết bi, dụng cụ

6.1 Thiết bị, dụng cụ phòng thí nghiệm thông thường.

Bất kỳ thiết bị, dụng cụ bằng thủy tinh nào được rửa bằng tác nhân làm sạch có tính axit thì phải xử lý bằng dung dịch amoniac (**5.21**) sau đó xả lại với nước và sấy khô trước khi sử dụng.

6.2 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ (40 ± 2) °C.

6.3 Cột thủy tinh có đầu xả và khóa vòi bằng polytetrafloetylen (PTFE); chiều dài cột khoảng 300 mm, đường kính trong khoảng 26 mm.

6.4 Cột thủy tinh có đầu xả và khóa vòi bằng PTFE; chiều dài cột khoảng 300 mm, đường kính trong khoảng 15 mm.

6.5 Bình và máy cô bay hơi Kuderna-Danish (K-D), được cải tiến có bình thu nhỏ giọt và bộ làm mát khí với khối cầu giãn nở hoặc di động.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng máy cô khác miễn là được công nhận như hệ thống K-D.

6.6 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ trong phạm vi từ 40 °C đến 60 °C.

6.7 Ampun, được viền mép và có thể được đóng kín bằng các vòng bích và septađược phủ PTFE (để bảo đảm septa không có N-nitrosamin).

6.8 Kìm cặp niêm phong cho ampun (**6.7**).

6.9 Bông thủy tinh, đã được rửa sạch bằng điclometan (**5.9**).

6.10 Phễu chiết (200 ml).

6.11 Phễu chiết (100 ml).

6.12 Detector phát quang hóa học có độ nhạy phù hợp (Máy Phân tích Nhiệt năng).

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng detector phân tích khác miễn là được công nhận như TEA.

6.13 Sắc ký khí (GC)

Hệ thống GC để sử dụng tùy theo lựa chọn của người phân tích. Tuy nhiên, phòng thí nghiệm phải chứng minh các điều kiện đã được tối ưu sau:

— (các) hệ thống phải tách N-nitrosamin được nêu trong tiêu chuẩn này (**5.18**), như diện tích pic của chúng để có thể so sánh với pic của chuẩn nội (**5.19**);

— Hệ thống phải tách được N-nitrosođimetylamin và N-nitrosođietylamin từ các N-nitrosamin được nêu trong tiêu chuẩn.

CHÚ THÍCH Các hướng dẫn dưới đây cho hệ thống sắc ký có thể đạt được việc tách mong muốn. Tuy nhiên, điều kiện giữa các phòng thí nghiệm là khác nhau và mỗi phòng thí nghiệm phải bảo đảm đạt được việc tách tương ứng với hệ thống lựa chọn. Có thể yêu cầu hai cột để tách tất cả các N-nitrosamin và để thu được độ nhạy phù hợp đối với NDBzA.

Các điều kiện sau được xem là phù hợp để xác định các N-nitrosamin bay hơi:

VÍ DỤ 1 Cột nhồi

Nhiệt độ buồng bơm:	200 °C.
Nhiệt độ lò:	200 °C
Cột:	cột thủy tinh, chiều dài (2,5 – 3,0) m, đường kính ngoài 1/8", được nhồi với:
	15% Carbowax 20M, TPA trên Chromsorb WHP 100/120mesh.
	hoặc 10% Carbowax 20M, 2% KOH trên Chromsorb WHP 100/120 mesh
	hoặc cộtthủy tinh, chiều dài (4,0 – 5,0) m, đường kính ngoài 1/8" được nhồi với 15 % SP 1200, 1% H_3PO_4 trên Chromsorb WAW 100/120 mesh.
Nhiệt độ nhiệt phân:	480 °C
Khí mang:	Argon, heli hoặc nitơ với tốc độ dòngkhoảng 20 ml/min.
Cặp:	trực tiếp giữa cột GC và lò nhiệt phân, hoặc sửdụng mặt phân cách được gia nhiệt ở 250 °C.

Các thay đổi sau được xem là phù hợp để xác định các alkyl phenyl N-nitrosamin:

Nhiệt độ buồng bơm:	150 °C.
Nhiệt độ lò:	khoảng (120-130) °C.
Cột:	bằng thủy tinh dài 2,0 m, đường kính ngoài 1/4", đường kính trong 2,0 mm, được nhồi với :
	10 % OV-101 trên Chromsorb WHP 80/100mesh
	hoặc: 3 % OV-225 trên Chromsorb WHP 80/100 mesh.
Nhiệt độ nhiệt phân:	480 °C.

Nhiệt độ mặt phân cách: 250 °C.

VÍ DỤ 2: Cột mao quản

Nhiệt độ buồng bơm: 200 °C

Nhiệt độ lò: 60 °C, 230 °C (10 °C/min).

Cột: 25,0 m silicađược nung chảy 0,53 mm FFAP 1 µm.

Nhiệt độ nhiệt phân: 480 °C.

Nhiệt độ mặt phân cách: 250 °C.

Hoặc:

Nhiệt độ buồng bơm: 50 °C 1 min, 200 °C (75 °C/min),

Nhiệt độ lò: 40 °C 7 min, 60 °C (1 °C/min), 230 °C (14°C/min).

Cột: 30,0 m silica đượcnung chảy 0,53 mm, film SE-54, 2 µm.

Nhiệt độ nhiệt phân: 480 °C.

Nhiệt độ mặt phân cách: 250 °C.

7 Cách tiến hành

7.1 Thôi nhiễm từ núm ty và ty giả

7.1.1 Cân tối thiểu 40 g núm ty cho ăn hoặc núm ty được lấy từ ty giả. Chuyển vào cốc có mỏ chứa nước cất sôi và đun sôi trong 10 min, sử dụng lượng nước tối thiểu cần thiết để làm ngập núm ty. Dùng kẹp hoặc kìm gắp để lấy ty giả ra khỏi nước. Để nguội xuống nhiệt độ phòng và sau đó cắt mỗi núm ty thành hai phần theo chiều dọc và để khô trong không khí.

7.1.2 Cân ít nhất 10 g núm ty đã chuẩn bị, chính xác đến 0,1 g và cho vào bình nón 50 ml. Dùng pipet lấy 40,0 ml dung dịch nước bọt nhân tạo (**5.8**) cho vào bình. Đậy bình bằng nút thủy tinh được mài nhám và lắc nhẹ nhàng để bảo đảm toàn bộ núm ty được ngập trong dung dịch, để bình đã đậy kín trong tủ sấy (**6.2**) ở nhiệt độ (40 ± 2) °C trong 24 h (±30 min).

CHÚ THÍCH Nếu lấy khối lượng núm ty lớn hơn 10 g, thì trong quá trình phân tích, thuốc thử và bình chứa sử dụng phải tăng tỷ lệ, riêng thể tích của dung dịch chuẩn nội (**5.19**) vẫn là 1,0 ml.

7.1.3 Gạn dung dịch trong bình vào ống đong 50 ml, đậy kín bằng nút thủytinh nhám. Rửa núm ty bằng 4,0 ml dung dịch nước bọt nhân tạo (**5.8**) và đổ sang ống đong. Pha loãng bằng nước cất đến 50,0 ml và trộn.

7.1.4 Dùng pipet để lấy 10,0 mldung dịch này sang bình nón 25 ml và đậy kín bằng nút thủy tinh nhám. Dung dịch này là Dung dịch B.

7.1.5 Dung dịch còn lại (40,0 ml) là Dung dịch A.

7.2 Phân lập N-nitrosamin trong Dung dịch A

7.2.1 Dùng pipet lấy 1,0 ml dung dịch chuẩn nội (**5.19**) và 1,0 ml dung dịch natri hyđroxit (**5.13**) cho vào dung dịch A (**7.1.5**) được đựng trong ống đong.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng Phương pháp A hoặc Phương pháp B để làm sạch dung dịch thử.

Phương pháp A

7.2.2 Thêm 25 g Kieselguhr hoặc vật liệu tách phù hợp (**5.10**) vào cột thủy tinh đường kính trong 26 mm (**6.3**) được đậy kín đáy bằng bông thủy tinh (**6.9**). Phủ lên đầu cột bằng thủy tinh được nung chảy(**5.16**) hoặc một lớp cát dày khoảng 1 cm (**5.22**).

Khi nhồi đầy cột, nhẹ nhàng gõ ngoài thành cột để chất nhồi được đồng đều hơn.

7.2.3 Đậy nút và lắc ống đong chứa dung dịch (**7.2.1**) và từ từ rót vào cột (**7.2.2**) Kieselguhr đã chuẩn bị, hoặc cột tương tự.

Phân bố mẫu dưới dạng pha tĩnh trên vật liệu nền xốp trong khoảng 10 min đến 15 min. Vẫn còn một khoảng khô có chiều rộng khoảng 50 mm đến 70 mm ở phần dưới cột.

7.2.4 Rót từ60 ml đến 80 ml điclometan (**5.9**) vào cột và trong khoảng 15 min đến 25 min, thu dịch chiết (khoảng 40 ml) vào bình K-D, hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**), điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt bằng khóa vòi PTFE.

CHÚ THÍCH Trong quá trình rửa giải bằng điclometan, khoảng khô bị thu hẹp lại còn 15 mm đến 30 mm. Quan sát dễ dàng quá trình này do sự thấm ướt khác nhau của mẫu và thấm ướt điclometan của Kieselguhr, hoặc vật liệu tương tự. Điều này rất quan trọng để khoảng khô không bị kiệt dung môi, mặt khác mẫu thử có thể chứa nước.

Phương pháp B

7.2.5 Đậy nắp và lắc ống đong chứa dung dịch (**7.2.1**) và đổ từ từ vào phễu chiết (**6.10**).

7.2.6 Thêm tối thiểu 20 ml điclometan (**5.9**) và lắc mạnh trong 1 min. Để các pha lỏng tách pha và, nếu cần thiết, ly tâm để phá vỡ nhũ tương hình thành. Lấy lớp bên dưới và đổ qua 30 g natri sulfat đã được làm sạch trước hoặc phễu lọc chiết pha thích hợp (**5.20**) vào bình K-D, hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**).

7.2.7 Lặp lại qui trình trong **7.2.6** hai lần nữa.

7.2.8 Rửa natri sulfat hoặc phễu lọc tách pha thích hợp (**5.20**) bằng 25 ml điclometan (**5.9**) và cho vào bình K-D hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**).

Làm giàu N-nitrosamin trong dung dịch A

7.2.9 Cho 2 ml n-hexan (**5.11**) và hai hoặc ba hạt chống sục (**5.15**) vào bình K-D hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**) chứadịch chiết từ Phương pháp A hoặc Phương pháp B. Gắn bộ làm mát không khí vào bình K-D hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**). Cô đặc dung dịch còn 4 ml đến 6 ml trong nồi cách thủy (**6.6**) hoặc dụng cụ tương tự, bắt đầu ở (40 ± 2) °C và tăng chậm đến (60 ± 2) °C (khoảng 2 °C/min) để tránh làm mất mẫu. Để nguộidung dịch và rửa thành bình bay hơi và hệ thống cô đặc bằng khoảng 2 ml điclometan (**5.9**).

7.2.10 Tháo bộ làm mát không khí ra khỏi bình K-D, hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**). Từ từ thổi nitơ (**5.14**) qua dung dịch trong bộ cô để dung dịch giảm xuống còn khoảng 1 ml. Để cân bằng với nhiệt độ phòng và sau đó chuyển sang ampun có viền mép (**6.7**) và đậy bằng septa và vòng bích (**6.7**)

Điều chỉnh dòng nitơ để bảo đảm chỗ lõm được tạo ra trên bề mặt dịch chiết được cô đặc không sâu quá 4 mm đến 5 mm, mặt khác có thể xảy ra dịch chiết bị quá lạnh hoặc rò rỉ. Quan trọng là thể tích phải không được xuống dưới giá trị tối thiểu được qui định trong bước cô đặc do sự bay hơi của N-nitrosamin. Nếu để dung dịch cô đặc lâu hơn 1 h trước khi phân tích, thì phải bảo quảntrong chỗ tối ở nhiệt độ không quá 5 °C.

7.3 Phân lập các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosaminở dạng N-nitrosamin trong Dung dịch B

7.3.1 Dùng pipet lấy 1,0 ml dung dịch axit clohyđric(**5.12**) vào Dung dịch B (**7.1.4**) và lắc để trộn(giá trị pH của dung dịch khoảng 1,4). Để yên ởchỗ tối 30 min.

7.3.2 Dùng pipet cho thêm 2,0 ml dung dịch natri hyđroxit (**5.13**) để kiềm hóa dung dịch và 1,0 ml dung dịch chuẩn nội (**5.19**) và lắc.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng Phương pháp C hoặc Phương pháp D để làm sạch dung dịch thử.

Phương pháp C

7.3.3 Chuẩn bị 8 g Kieselguhr, hoặc vật liệu tách phù hợp khác (**5.10**) và cột như mô tả trong **7.2.2,** sử dụng cột thủy tinh có đường kính trong 15 mm (**6.4**).

7.3.4 Đưa dung dịch (**7.3.2**) lên cột này như mô tả trong **7.2.3**.

7.3.5 Rót từ 25 ml đến 30 ml điclometan (**5.9**) lên cột và thu lại dịch chiết (khoảng 15 ml) như mô tả trong**7.2.4**.

Phương pháp D

7.3.6 Cho dung dịch (**7.3.2**) vào phễu chiết (**6.11**).

7.3.7 Thêm tối thiểu 10 ml điclometan (**5.9**) và lắc mạnh trong 1 min. Thu lớp hữu cơ bên dưới vào bình K-D, hoặc dụng cụ tương tự, như mô tả trong**7.2.6**.

7.3.8 Lặp lại qui trình trong **7.3.7** hai lần nữa.

7.3.9 Rửa natrisulfat hoặc phễu lọc tách pha (**5.20**) như mô tả trong**7.2.8** và cho vào bình K-D, hoặc dụng cụ tương tự (**6.5**).

Làm giàu các hợp chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamindưới dạng N-nitrosamin trong Dung dịch B

7.3.10 Cô đặc dịch chiết từ Phương pháp C hoặc Phương pháp D đến thể tích cuối cùng khoảng 1 ml như mô tả trong **7.2.9** và **7.2.10**.

7.4 Thử mẫu trắng

Phép thử này được thực hiện bằng cách tiến hành tất cả các qui trình từ **7.1.2** đến **7.3.9** mà không có núm ty và không có bước thôi nhiễm (**7.1.2**).

7.5 Sắc ký

Bơm từ 1 µl đến 10 µl dịch chiết vào GC/detector phát quang hóa học ở các điều kiện tối ưu (**6.13**). Cũng phân tích một thể tích tương tự đối với dung dịch chuẩn (**5.18**) và dung dịch chuẩn nội (**5.19**).

Để nhận được các kết quả tin cậy, nên thực hiện các phân tích cùng ngày với chuẩn bị dịch chiết. Nếu không thể thực hiện được, thìbảo quảndịch chiếttránh ánh sáng ở nhiệt độ không quá 5 °C.

8 Giải thích kết quả

8.1 Hàm lượng N-nitrosamin của Dung dịch A

8.1.1 Tính toán hàm lượng của từng N-nitrosamin sử dụng Công thức (1) và (2).

$$M\ (\mu g/kg) = \frac{5FA_{\mathrm{NA}}}{4A_{\mathrm{NDiPA^R}}} \qquad (2)$$

trong đó:

M là lượng N-nitrosamin thôi nhiễm từ mẫu vào dung dịch thử nước bọt tính bằng µg/kg, được hiệu chỉnh bằng so sánh với tỉ lệ thu hồi chuẩn nội N_{DiPA}được thêm vào;

F là hệ số được tính toán từ Công thức (2);

$$F = \frac{VCA_{\mathrm{NDiPA^1}}V_{\mathrm{NASTD}}}{GA_{\mathrm{NASTD}}V_{\mathrm{NDiPA^1}}} \qquad (2)$$

Trong đó:

A_{NA} là diện tích pic của N-nitrrosamin thôi nhiễm xác định được từ mẫu vào dung dịch thử nước bọt (Dung dịch A).

A_{NDiPA^R} là diện tích pic của chuẩn nội N_{DiPA}được thu hồi từ Dung dịch thử A

C là nồng độ của N-nitrosamin xác định được trong dung dịch chuẩn tính bằng µg/l;

G là phần vật liệu mẫu được cân, tính bằng g;

A_{NASTD} là diện tích pic của N-nitrosamin xác định được trong dung dịch chuẩn;

A_{NDiPA^1} là diện tích pic khi bơm trực tiếp chuẩn nội N_{DiPA}, tính bằng µl;

V_{NASTD} là thể tích của chuẩn N-nitrosamin được bơm vào, tính bằng µl;

V_{NDiPA^1} là thể tích của chuẩn nội N_{DiPA}, tính bằng µl.

8.1.2 Tính toán tổng hàm lượng N-nitrosamin bằng cách cho thêm vàomột lượng từng N-nitrosamin riêng lẻ phát hiện được. Nếu không nhậnđược pic đặc trưng cho mỗi N-nitrosamin riêng lẻ, nghĩa là3 lần chỉ nhận được tín hiệu nhiễu của đường chuẩn, thì phải báo cáo là "không phát hiện được" hoặc "ND" và giá trị được xử lý bằng "không".

CHÚ THÍCH Sản phẩm sẽ phù hợp với Chỉ thị 93/11/EEC nếu có tổng hàm lượng N-nitrosamin phát hiện được ít hơn 0,01 mg/kg elastomehoặc cao su, sau khi áp dụng dung sai phân tích trong Điều 9.

8.2 Hàm lượng các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin của dung dịch B, được tính dưới dạng N-nitrosamin

8.2.1 Tính toán hàm lượng từng N-nitrosamin riêng lẻ phát hiện được bằng sử dụng Công thức (2) và (3). Hàm lượngcủa từngN-nitrosamin xác địnhđược, được tính trong Dung dịch A phải được trừ từ các giá trị thu được.

$$M\ (\mu g/kg) = \frac{5FA_{NA}}{A_{NDiPA^R}} \quad (3)$$

Trong đó

M là hàm lượng N-nitrosamin thôi nhiễm từ mẫu vào dungdịch thử nước bọt tính bằng µg/kg, được hiệu chỉnh bằng cách so sánh với tỉ lệ thu hồi chuẩn nội N_{DiPA} được thêm vào;

F là hệ số được tính toán từ Công thức (2);

A_{NA} là diện tích pic của N-nitrosamin thôi nhiễm xác định được từ mẫu vào dung dịch thử nước bọt (Dung dịch B);

A_{NDiPA^R} là diện tích pic của dung dịch chuẩn nội N_{DiPA} được thu hồi từ Dung dịch thử B.

8.2.2 Tính toán tổng hàm lượng các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosaminbằng cách cho thêm vàomột lượng từngchất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosaminriêng lẻ phát hiện được, được hiệu chỉnh đối với lượng của từng N-nitrosamin được tính trong dung dịch A. Nếu không nhậnđược pic đặc trưng cho mỗi N-nitrosamin riêng lẻ, nghĩa là 3 lần chỉ nhận được tín hiệu nhiễu của đường chuẩn, thì phải báo cáo là "không phát hiện được" hoặc "ND" và giá trị được xử lý bằng "không".

CHÚ THÍCH Sản phẩm sẽ phù hợp với Chỉ thị 93/11/EEC nếu có tổng hàm lượng các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin phát hiện được ít hơn 0,1 mg/kg elastomehoặc cao su, sau khi áp dụng dung sai phân tích trong Điều **9**.

9 Dung sai phân tích

9.1 Bất kỳ kết quả phân tích nào thu được trong Điều **8**lớn hơn giới hạn qui định trong **8.1.2** và **8.2.2** phải áp dụng dung sai phân tích trong **9.2** để tính được kết quả phân tích.

9.2 Dung sai phân tích cho N-nitrosamin: 0,01 mg/kg.

Dung sai phân tích cho các chất có khả năng chuyển hóa thành N-nitrosamin: 0,1 mg/kg.

CHÚ THÍCH Dung sai phân tích được yêu cầu có tính đến các thay đổi vốn có trong phép đo được chỉ ra bởi các phép thử liên phòng thí nghiệm.

9.3 Các sản phẩm được cho là phù hợp với Chỉ thị 93/11/EEC nếu kết quả phân tích tính được nhỏ hơn các giới hạn được qui định trong **8.1.2** và **8.2.2**.

Kết quả phân tích N-nitrosamin, 0,018 mg/kg

Hiệu chỉnh phân tích 0,01 mg/kg

Kết quả phân tích được tính = 0,018 mg/kg – 0,01 mg/kg = 0,008 mg/kg.

Điều này được cho là phù hợp với Chỉ thị 93/11/EEC (giới hạn N-nitrosamin, 0,01 mg/kg).

10 Xác nhận lại N-nitrosamin phát hiện được

10.1 Nếu tổng hàm lượng N-nitrosamin biểu kiến xác định được trong dung dịch thử nước bọt lớn hơn, hoặc bằng với các giới hạn được qui định trong **8.1.2** và **8.2.2**, các N-nitrosamin phát hiện được và khối lượng của chúng phải được xác nhận lại bằng một trong các cách sau:

a) Cho một phần dung dịch thử còn lại vào một lọ thủy tinh nhỏ trong suốt với UV và cho bức xạ UV đi qua (3 h, bước sóng 366nm) cùng với một dung dịch chuẩn được chuẩn bị tương tự (**5.19**) trong một lọ riêng. Trong phân tích GC, các pic tương ứng với sựcó mặtcủa N-nitrosamin sẽ không xuất hiện hoặc phân hủy. Tuy nhiên, nếu pic mẫukhông bị khử sau khi chiếu xạ, pic cơ bản sẽ ở vị trí sai và không yêu cầu khảo sát thêm sự có mặt của N-nitrosamin.
b) Sử dụng ít nhất một cột khác với pha tĩnh có độ phân cực khác; hoặc

c) bằng phổ khối lượng.

10.2 Nếu xuất hiện một số pic không tương ứng với N-nitrosamin sau khi thực hiện các qui trình trên, tính toán lại tổng hàm lượngN-nitrosamin bao gồm chỉ các pic đó tùy thuộc vào N-nitrosamin.

11 Báo cáo thử nghiệm

11.1 Các tiến hành phân tích phòng thí nghiệm phải được báo cáo với kết quả thử chính xác, rõ ràng và không mập mờ và tất cả các thông tin liên quan khác phải phù hợp vớiEN 45001. Tốt nhất là bao gồm cả kết quả phân tich và kết quả tính toán đối với từng N-nitrosamin và tổng hàm lượng N-nitrosamin và các chất có khả năng chuyển hóa thành nitrosamin.

11.2 Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm ít nhất các thông tin sau:

a) Tên và địa chỉ của phòng thử nghiệm và vị trí phép thử được thực hiện nếu khác với địa chỉ phòng thử nghiệm.
b) Cách nhận biết của báo cáo (như số seri) và của mỗi trang, và tổng số trang báo cáo;
c) Mô tả và nhận dạng mẫu phòng thí nghiệm;
d) Mô tả qui trình lấy mẫu, nếu có liên quan;
e) Ngày nhận mẫu phòng thí nghiệm, và ngày thực hiện thử và
f) Nhận dạng yêu cầu thử hoặc mô tả qui trình phân tích.

Thư mục tài liệu tham khảo

[1] Bestimmung von Nitrosaminen in bestimmten Bedarfsgegenständen (Babysauger),Bundesgesundheitsblatt 27, Nr. 5, Mai 1984, Seiten 160 bis 162 (Germany).

[2] Directive 93/11/EEC Commission Directive 93/11/EEC of 15 March 1993 concerning the release of the N-nitrosamines and N-nitrosatable substances from elastome or rubber teats and soothers.