

DIN EN 12868

ICS 97.190

Einsprüche bis 2015-07-08
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 12868:1999-12

Entwurf

**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;
Deutsche und Englische Fassung prEN 12868:2015**

Child use and care articles –
Methods for determining the release of N-Nitrosamines and N-Nitrosatable substances
from elastomer or rubber teats and soothers;
German and English version prEN 12868:2015

Articles de puériculture –
Méthodes pour déterminer la libération de N-Nitrosamines et de substances N-Nitrosables
par les tétines et les sucettes en élastomère ou caoutchouc;
Version allemande et anglaise prEN 12868:2015

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2015-05-08 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses
Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nasg@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Sicherheitstechnische Grundsätze (NASG), 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 64 Seiten

DIN-Normenausschuss Sicherheitstechnische Grundsätze (NASG)

Nationales Vorwort

Diese Norm enthält sicherheitstechnische Festlegungen.

Dieses Dokument (prEN 12868:2015) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 252 „Artikel für Säuglinge und Kleinkinder“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 095-05-02 AA „Artikel für Säuglinge und Kleinkinder - Essen, Trinken, Saugen und ähnliche Funktionen“ im DIN-Normenausschuss Sicherheitstechnische Grundsätze (NASG).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN 12868 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 12868:1999-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Probenherstellung vereinfacht und damit diese Ursache für Streuungen zwischen den Laboratorien abgebaut;
- b) Vorkochen und der Versuchsaufbau für die Migration zur Bestimmung von *N*-Nitrosaminen und *N*-Nitrosierbaren Stoffen getrennt, was die Benutzung derselben Gefäße ermöglicht und den möglichen Verlust migrierter Stoffe vermeidet;
- c) Probenmengen angepasst und die Probenmasse zur Bestimmung von *N*-Nitrosierbaren Stoffen erhöht;
- d) Standardverfahren zur Herstellung der Migrationslösungen vereinfacht und auf ein Verfahren beschränkt, um auf diese Weise die Streuung bei den Ringversuchen zu verringern;
- e) Spülschritt aufgenommen, um die Variabilität infolge möglicher Verluste bei den Analyten zu vermeiden;
- f) Berechnung der Ergebnisse unter Berücksichtigung der gültigen Analysenormen überarbeitet;
- g) Bestätigung der Ergebnisse und die Anwendung der Analysetoleranzen geklärt;
- h) alternative Verfahren berücksichtigt und Qualitätskriterien für ihre Anwendung aufgenommen.

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

Articles de puériculture — Méthodes pour déterminer la libération de N-Nitrosamines et de substance N-Nitrosables par les tétones et les sucettes en élastomère et caoutchouc

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

ICS: 97.190

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

Inhalt

	Seite
Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Reagenzien	7
6 Geräte.....	8
7 Standardlösungen der <i>N</i> -Nitrosamine	9
7.1 Allgemeines	9
7.2 In Saugteilen identifizierte <i>N</i> -Nitrosamine	10
7.3 Kalibrierlösungen (für das Detektoransprechvermögen).....	10
7.4 Als interner Standard zu verwendendes <i>N</i> -Nitrosamin	11
8 Durchführung	11
8.1 Allgemeines	11
8.2 Probenherstellung	11
8.3 Probe A (zur Bestimmung der <i>N</i> -Nitrosierbaren Stoffe).....	12
8.3.1 Vorbereitung und Vorkochen	12
8.3.2 Herstellen von Migrationslösung A (zur Bestimmung der <i>N</i> -Nitrosierbaren Stoffe), siehe A.1	13
8.3.3 Nitrosierung von Migrationslösung A (siehe A.2) und Herstellen von Lösung A.....	13
8.4 Probe B (zur Bestimmung vorgebildeter <i>N</i> -Nitrosamine).....	14
8.4.1 Vorbereitung und Vorkochen	14
8.4.2 Herstellen der Migrationslösung B (zur Bestimmung vorgebildeter <i>N</i> -Nitrosamine).....	14
8.4.3 Herstellen von Lösung B	14
8.5 Herstellen der Trennsäulen für die Lösungen A und B	14
8.6 Abtrennen von <i>N</i> -Nitrosaminen.....	14
8.6.1 Aus Lösung A.....	14
8.6.2 Aus Lösung B.....	15
8.7 Einengen von <i>N</i> -Nitrosaminen	15
8.7.1 In Extrakt A	15
8.7.2 In Extrakt B	15
8.8 Blindversuch	16
8.9 Untersuchung.....	16
8.9.1 Kalibrierfunktion	16
8.9.2 Berechnung von Probenkonzentration und Massenkonzentration.....	16
9 Berechnung der Ergebnisse.....	17
9.1 Allgemeines	17
9.2 Menge an <i>N</i> -Nitrosierbaren Stoffen, die aus Probe A migrieren und als <i>N</i> -Nitrosamine aus dem Konzentrat A analysiert und angegeben werden	18
9.3 Menge an <i>N</i> -Nitrosaminen, die aus Probe B migrieren und als <i>N</i> -Nitrosamine aus dem Konzentrat B analysiert und angegeben werden	18
10 Bestätigung der nachgewiesenen <i>N</i> -Nitrosamine	18
11 Analysetoleranzen	19

11.1	Allgemeines	19
11.2	Spezifische Analysetoleranzen (siehe A.9).....	19
11.3	Beispiele für die Anwendung der Analysetoleranzen	19
12	Einhaltung der Richtlinie	19
13	Prüfbericht	20
Anhang A (informativ) Begründungen		21
A.1	Allgemeines	21
A.2	Migrationsbedingungen (siehe 8.3.2)	21
A.3	Nitrosierungsbedingungen (siehe 8.3.3).....	21
A.4	Gewicht der benutzten Probe (siehe 8.3.1)	22
A.5	Separate Migrationen (siehe 8.2)	22
A.6	Vergleich von TEA und MS-Detektor (siehe 6.11)	23
A.7	Abweichungen	23
A.8	Wesentliche Unterschiede zwischen dieser Norm und EN 71-12 [3]	23
A.9	Doppelprüfungen (siehe 8.1)	23
A.10	Technischer Bericht (siehe 11.2)	24
Anhang B (informativ) Geeignetes chromatographisches Verfahren		25
Anhang C (informativ) Beispiel eines Prüfberichts		27
Anhang D (informativ) Qualitätskontrolle bei alternativen Verfahren.....		29
D.1	Allgemeines	29
D.2	Chromatographische Bedingungen	29
D.3	MS/MS-Bedingungen.....	30
D.4	Bestätigung der nachgewiesenen <i>N</i> -Nitrosamine	31
Literaturhinweise		32

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 12868:2015) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 252 „Artikel für Säuglinge und Kleinkinder“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 12868:1999 ersetzen.

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

Im dem vorliegenden Dokument sind im Vergleich zu EN 12868:1999 die folgenden wesentlichen Änderungen enthalten:

- Die Probenherstellung wurde vereinfacht, und damit diese Ursache für Streuungen zwischen den Laboratorien abgebaut.
- Das Vorkochen und der Versuchsaufbau für die Migration wurden zur Bestimmung von *N*-Nitrosaminen und *N*-Nitrosierbaren Stoffen getrennt, was die Benutzung derselben Gefäße ermöglicht und den möglichen Verlust migrierter Stoffe vermeidet. Probenmengen wurden angepasst und die Probenmasse zur Bestimmung von *N*-Nitrosierbaren Stoffen erhöht.
- Die Standardverfahren zur Herstellung der Migrationslösungen wurden vereinfacht und auf ein Verfahren beschränkt, um auf diese Weise die Streuung bei den Ringversuchen zu verringern. Ein Spülschritt wurde aufgenommen, um die Variabilität infolge möglicher Verluste bei den Analyten zu vermeiden.
- Die Berechnung der Ergebnisse wurde unter Berücksichtigung der gültigen Analysenormen überarbeitet. Die Bestätigung der Ergebnisse und die Anwendung der Analysetoleranzen wurden geklärt.
- Alternative Verfahren wurden berücksichtigt und Qualitätskriterien für ihre Anwendung aufgenommen.

Einleitung

Es wurde nachgewiesen, dass Flaschen- und Beruhigungssauger aus Elastomeren oder Gummi *N*-Nitrosamine und Stoffe abgeben können, die sich in *N*-Nitrosamine umwandeln können (*N*-Nitrosierbare Stoffe). Gemäß der Stellungnahme des Wissenschaftlichen Lebensmittelausschusses der Europäischen Gemeinschaft können *N*-Nitrosamine und *N*-Nitrosierbare Stoffe aufgrund ihrer Toxizität eine Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellen. Folglich hat die Kommission der Europäischen Gemeinschaften 1993 eine Richtlinie erlassen (93/11/EWG) [1], welche die Freisetzung dieser Stoffe aus Flaschen- und Beruhigungssaugern aus Gummi und Elastomeren regelt. Diese Richtlinie schreibt auch Grundregeln zur Bestimmung der Abgabe dieser Stoffe und Maßgaben für das anzuwendende Bestimmungsverfahren vor.

Diese Europäische Norm hat zum Zweck, ein detailliertes Analysenverfahren zur Identifizierung und Bestimmung der aus Flaschen- und Beruhigungssaugern freigesetzten *N*-Nitrosamine und *N*-Nitrosierbaren Stoffe bereitzustellen, um das Einhalten der Anforderungen der Richtlinie 93/11/EWG festzustellen.

Die Prüflaboratorien sollten besonders auf das Einhalten der Normen zum Arbeitsschutz und zur Arbeitsmedizin achten. Die mit dieser Europäischen Norm beschäftigten Personen sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Mit der vorliegenden Europäischen Norm wird nicht beabsichtigt, alle mit ihrer Benutzung verbundenen, möglicherweise vorhandenen sicherheitsrelevanten Probleme anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, geeignete Gesundheits- und Sicherheitsmaßnahmen festzulegen und für das Einhalten aller nationalen Vorschriften zu sorgen.

Das vorliegende Verfahren ist noch nicht validiert.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt die Verfahren zur Probenherstellung und Migration von Saugteilen für Babys aus Elastomer oder Gummi und zur Isolation, Identifizierung und quantitativen Bestimmung der aus Saugteilen aus Elastomeren oder Gummi freigesetzten *N*-Nitrosamine und *N*-Nitrosierbaren Stoffe bei Kontakt mit künstlicher Speichelsalzlösung fest.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696)*

EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Saugteil

flexibles Elastomer- oder Gummitteil, das in den Mund genommen werden kann.

Anmerkung 1 zum Begriff: Das kann ein Saugteil eines Beruhigungssaugers oder eines Flaschensaugers sein

3.2

Beruhigungssauger

Gegenstand, der ein Saugteil enthält, das dazu dient, das nicht nutritive Saugbedürfnis von Kindern zu befriedigen

Anmerkung 1 zum Begriff: Beruhigungssauger werden auch Schnuller oder Babysauger genannt.

3.3

Flaschensauger

ersetzt die mütterliche Brustwarze und ermöglicht es dem Kleinkind, nach dem Befestigen an einem Behältnis, durch Saugen Flüssigkeit zu erhalten

Anmerkung 1 zum Begriff: Das schließt alle Vorrichtungen aus Elastomer ein, die es dem Kind ermöglichen, Nahrung durch Saugen aufzunehmen.

3.4

Elastomer

Werkstoff, der unter Belastung eine substanzielle, elastische (vollständig reversible) Verformung eingehen kann und aus einem dreidimensionalen Netzwerk vernetzter flexibler Polymere besteht

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Vernetzungen können chemische Bindungen in Gummi (wie Naturkautschuk, synthetischer Kautschuk) und gehärteten Silikonen sein.

3.5

Gummi

ein Elastomer nach dem Aushärten

3.6

N-Nitrosamin

durch die funktionelle Gruppe -N-N=O charakterisierter Stoff, der sich üblicherweise durch die Reaktion eines Amins mit einem nitrosierenden Agens, z. B. Nitrit, bei einem sauren pH-Wert bildet

Anmerkung 1 zum Begriff: Im Gegensatz zu *N*-Nitrosierbaren Stoffen werden migrierende *N*-Nitrosamine oftmals als vorgebildete *N*-Nitrosamine bezeichnet.

3.7

N-Nitrosierbarer Stoff

Stoff, der nach Abgabe in die künstliche Speichelsalzlösung (5.8) unter den in 8.3.3 festgelegten Bedingungen eine Nitrosierung durchmacht, wobei ein *N*-Nitrosamin gebildet wird

3.8

gebrauchsfertiges Erzeugnis

Erzeugnis, das dazu vorgesehen ist, ohne eine Vorbehandlung durch den Verbraucher benutzt zu werden, zum Beispiel ohne die Notwendigkeit der Reinigung durch Abkochen

4 Kurzbeschreibung

N-Nitrosamine und *N*-Nitrosierbare *Stoffe* migrieren unter festgelegten Bedingungen in eine nitrithaltige künstliche Speichelsalzlösung. Zwei Migrationsvorgänge werden durchgeführt, davon einer zur Bestimmung von *N*-Nitrosierbaren Stoffen (aus der Migrationslösung A nach Nitrosierung als *N*-Nitrosamine) und einer zur Bestimmung der vorgebildeten *N*-Nitrosamine (aus Migrationslösung B). Die endgültigen Prüfkonzentrate werden nach dem Abtrennen und Einengen mittels Gaschromatographie (GC) mit Chemolumineszenzdetektor (TEA) auf *N*-Nitrosamine untersucht.

Die Gehalte an freigesetztem *N*-Nitrosamin und an freigesetzten *N*-Nitrosierbaren *Stoffen* werden als *N*-Nitrosamine in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) der Probe angegeben.

5 Reagenzien

Soweit nicht anders festgelegt, müssen alle Chemikalien analysenrein und frei von *N*-Nitrosaminen und *N*-Nitrosierbaren Stoffen sein. (Siehe 8.8).

5.1 Destilliertes Wasser oder Wasser von gleichwertiger Reinheit, das mindestens dem Reinheitsgrad 3 nach EN ISO 3696 entspricht

5.2 Natriumhydrogencarbonat (CAS-Nr. 144-55-8)

5.3 Natriumchlorid (CAS-Nr. 7647-14-5)

5.4 Kaliumcarbonat (CAS-Nr. 584-08-7)

5.5 Natriumnitrit (CAS-Nr. 7632-00-0)

5.6 Salzsäure, (CAS-Nr. 7647-01-0)

5.6.1 Wässrige Lösung, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$

5.6.2 Wässrige Lösung, $c(\text{HCl}) = 1,0 \text{ mol/l}$

5.7 Natriumhydroxid, (CAS-Nr. 1310-73-2)

5.7.1 Wässrige Lösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

5.7.1 Wässrige Lösung, $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol/l}$

5.8 Künstliche Speichelsalzlösung

Die künstliche Speichelsalzlösung ist durch Lösen der angegebenen Salze in den entsprechenden Massen der Tabelle 1 mit (950 ± 5) ml Wasser (5.1) herzustellen.

Tabelle 1 — Salze und ihre Massen für 1 Liter künstliche Speichelsalzlösung

Salze	CAS-Nr.	Abschnitt	Masse (g) ^a
Natriumhydrogencarbonat	144-55-8	5.2	$4,2 \pm 0,021$
Natriumchlorid	7647-14-5	5.3	$0,5 \pm 0,002\ 5$
Kaliumcarbonat	584-08-7	5.4	$0,2 \pm 0,001$
Natriumnitrit	7632-00-0	5.5	$0,03 \pm 0,001$
^a Toleranzen sind, mit Ausnahme von Natriumnitrit, $\pm 0,5$ der Masse.			

Die Lösung ist, wenn notwendig, durch tropfenweise Zugabe der Salzsäurelösung (5.6.1) oder der Natriumhydroxidlösung (5.7.1) auf einen pH-Wert von $(9,0 \pm 0,1)$ einzustellen. Die Lösung ist in einen 1-l-Messkolben zu überführen, und dieser ist mit Wasser (5.1) bis zur Marke aufzufüllen.

Diese Lösung hat eine begrenzte Stabilität. Eine länger als fünf Tage gelagerte künstliche Speichelsalzlösung darf nicht verwendet werden.

5.9 Dichlormethan, wasserfrei (CAS-Nr. 75-09-2)

5.10 Kieselgur

5.11 Gereinigter Stickstoff

5.12 Siedekörnchen

5.13 Ethanol (CAS-Nr. 64-17-5), absolut

5.14 Wässrige Ammoniumhydroxidlösung, CAS-Nr. 1336-21-6, $c(\text{NH}_4\text{OH}) = 0,1$ mol/l, zum Waschen der Laborglasgeräte

5.15 Seesand, mit Säure gewaschen und geglüht

6 Geräte

6.1 Übliche Laborausstattung.

Die Glasgeräte sind vor dem Gebrauch in den Prüfungen mit der Ammoniaklösung (5.14) zu behandeln, mit Wasser zu spülen und zu trocknen.

Die Messkolben sind, um einen Probenverlust oder eine Eigenschaftverschlechterung zu vermeiden, mit Glasschliffstopfen zu verschließen. Laborgeräte aus Braunglas und/oder aus Glas, das durch das Umhüllen mit Aluminiumfolie lichtgeschützt ist, sind zu verwenden, um einen Eigenschaftsverlust der *N*-Nitrosamine in den Lösungen zu vermeiden.

6.2 Trockenschrank, der bei (40 ± 2) °C gehalten wird.

6.3 Glassäulen mit Auslauf und Küken (z. B. Stopfen aus Polytetrafluorethylen); Säulenlänge etwa 450 mm, Innendurchmesser etwa 26 mm. Handelsübliche gebrauchsfertige Säulen dürfen verwendet werden.

6.4 Sinterglasfritten für Säulen (6.3).

6.5 Laborglasgerät für die Konzentrationsstufe (Einengungsstufe), Verdampfer, z. B. Kuderna-Danish-Verdampfer und -Konzentrator, mit einem graduierten Auffanggefäß und einem Luftkühler mit einer Schweb- oder Expansionskugel modifiziert oder jeder geeignete automatische Verdampfer, der eine Wiederfindungsrate von $(95 \pm 30) \%$ für jedes in Tabelle 2 angegebene *N*-Nitrosamin nachweist.

6.6 Wasserbad, das bei Temperaturen zwischen 40 °C und 60 °C gehalten werden kann.

6.7 Rollrandampullen, die mit Bördelringen verschlossen werden können und Septen, die frei von *N*-Nitrosaminen sind.

6.8 Verschlusszange für die Ampullen (6.7).

6.9 Glaswolle, mit Dichlormethan (5.9) gewaschen.

6.10 pH-Meter mit einer relativen Genauigkeit von mindestens $(\pm 0,2)$.

6.11 Chemolumineszenzdetektor mit ausreichender Empfindlichkeit (Thermal Energy Analyzer, TEA) (siehe A.5).

Andere geeignete Detektoren können unter der Voraussetzung verwendet werden, dass sie gegen den TEA-Detektor für die geprüften Stoffe validiert wurden.

6.12 Gaschromatographie (GC)

Die Auswahl des zu verwendenden GC-Systems bleibt dem Prüflabor überlassen. Folgendes muss jedoch sichergestellt sein:

- Das System muss (die Systeme müssen) die in dieser Norm genannten *N*-Nitrosamine so abtrennen, dass ihre Peakflächen mit der Peakfläche des internen Standards (siehe 7.4) verglichen werden können.
- Das System muss *N*-Nitroamine von den genannten *N*-Nitrosaminen abtrennen.
- Sollten andere als die in der vorliegenden Norm (Tabelle 2) genannten *N*-Nitrosamine gefunden werden, muss das System auf ihre Abtrennung und Identifizierung angepasst werden können.

N-Nitrosamine, die nicht identifiziert werden können, sind wie in Abschnitt 9 angegeben zu berichten.

ANMERKUNG Anhang B enthält Beispiele für chromatographische Systeme und Einstellungen, die sich beim Erzielen der geforderten Abtrennungen als geeignet erwiesen haben.

7 Standardlösungen der *N*-Nitrosamine

7.1 Allgemeines

WARNUNG — *N*-Nitrosamine können aufgrund ihrer Toxizität eine Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellen. Die genutzten Vorrichtungen sollten nach dem Gebrauch sorgfältig behandelt werden, um *N*-Nitrosamin-Rückstände, zum Beispiel durch Spülen mit 15%igem Bromwasserstoff (HBr, CAS-Nr. 10035-10-6)/Eisessig (CH₃COOH, CAS-Nr. 64-19-7), Exposition in UV-Licht oder sonstige geeignete Verfahren zu zerstören.

Die Konzentration der *N*-Nitrosamin-Standardlösungen kann sich durch UV-Licht, Verdampfung und/oder Adsorption während der Lagerung verändern. Daher sind Laborglasgeräte aus Braunglas und/oder aus Glas, das durch das Umhüllen mit Aluminiumfolie lichtgeschützt ist, zu verwenden und dem Licht nicht unnötigerweise auszusetzen. Glasschliffstopfen sind zu verwenden (siehe 6.1). Ebenso sind alle Lösungen vor dem Überführen einer Flüssigkeit durch kräftiges Schütteln der Gefäße zu homogenisieren (einige *N*-Nitrosamine lagern und reichern sich an Gefäßinnenwänden an).

Stammlösungen sind in einem Tiefkühlschrank zu lagern. Standard- und interne Kalibrierlösungen (7.3 und 7.4) sind bei Temperaturen unter 5 °C lichtgeschützt zu lagern und können für bis zu zwei Wochen verwendet werden.

Zertifizierte *N*-Nitrosamin-Standards und ihre Gemische können von verschiedenen Lieferanten bezogen werden. Die Zertifizierung muss Angaben sowohl zu Reinheit als auch Lagerung und Stabilität einschließen.

7.2 In Saugteilen identifizierte *N*-Nitrosamine

Die in Tabelle 2 dargestellten folgenden *N*-Nitrosamine und/oder ihre Vorformen wurden in Saugteilen identifiziert und sind somit für die Prüfung und folglich für Kalibrierstandards relevant.

Tabelle 2 — Namen, Abkürzungen und CAS-Nummern der für diese Norm relevanten *N*-Nitrosamine und entsprechende Quantifizierungsgrenzen

Name	Abkürzung	CAS-Nr.	LOQ (mg/kg)
<i>N</i> -Nitrosodimethylamin	NDMA	62-75-9	0,001
<i>N</i> -Nitrosodiethylamin	NDEA	55-18-5	0,001
<i>N</i> -Nitrosodipropylamin	NDPA	621-64-7	0,001
<i>N</i> -Nitrosodiisobutylamin	NDiBA	997-95-5	0,001
<i>N</i> -Nitrosodibutylamin	NDBA	924-16-3	0,001
<i>N</i> -Nitrosopiperidin	NPIP	100-75-4	0,001
<i>N</i> -Nitrosopyrrolidin	NPYR	930-55-2	0,001
<i>N</i> -Nitrosomorpholin	NMOR	59-89-2 oder 67587-56-8	0,001
<i>N</i> -Nitrosodibenzylamin	NDBzA	5336-53-8	0,005
<i>N</i> -Nitroso- <i>N,N</i> -di(3,5,5-trimethylhexyl)amin allgemein als <i>N</i> -Nitrosodiisononylamin bekannt	NDiNA	1207995-62-7	0,005
<i>N</i> -Nitroso <i>N</i> -methyl <i>N</i> -phenylamin	NMPhA	614-00-6	0,005
<i>N</i> -Nitroso <i>N</i> -ethyl <i>N</i> -phenylamin	NEPhA	612-64-6	0,005

Stammlösungen (etwa 1 mg/ml) der *N*-Nitrosamine müssen in Ethanol (5.13) vorliegen.

Alle zum Erzielen von Standardlösungen verwendeten *N*-Nitrosamine müssen eine zertifizierte Reinheit haben, die bei der Berechnung der Mengen für die Standardlösungen zu berücksichtigen ist. Die in Tabelle 2 angegebenen Quantifizierungsgrenzen (LOQ) sind vom Labor zu erreichen.

N-Nitrosodiethanolamin (NDELA, CAS-Nr. 1116-54-7) wurde in Babysaugern bisher nicht beobachtet.

ANMERKUNG Die Analyse von NDELA durch GC und nach der vorliegenden Norm erfordert eine Derivatisierung [2].

7.3 Kalibrierlösungen (für das Detektoransprechvermögen)

Jede Kalibrierlösung und die Kalibrier-Blindlösung müssen etwa 100 ng/ml eines geeigneten internen Standards (7.4) enthalten. Die Kalibrierlösungen sind durch Mischen bekannter Mengen der zu prüfenden *N*-Nitrosamine (Tabelle 2) und durch Verdünnen mit Ethanol (5.13) herzustellen, um mindestens vier unterschiedliche Endkonzentrationen zu erhalten, die mindestens den Bereich von 5 ng/ml bis 500 ng/ml für jedes enthaltene *N*-Nitrosamin abdecken.

Alternativ dürfen zertifizierte gemischte Stammlösungen verwendet werden, um Kalibrierlösungen des gleichen Konzentrationsbereichs zu erzielen.

7.4 Als interner Standard zu verwendendes *N*-Nitrosamin

Jedes *N*-Nitrosamin darf als ein interner Standard für die Lösungen A und B und für die Kalibrierlösungen, zum Beispiel jedes in Tabelle 2 angegebene *N*-Nitrosamin, unter der Voraussetzung verwendet werden, dass es in dem Prüfmuster oder in den Kalibrierlösungen nicht enthalten ist.

N-Nitrosodiisobutylamin (NDiPA, CAS-Nr. 601-77-4) wird üblicherweise als interner Standard verwendet.

Die interne Standardlösung ist aus einer bekannten Menge *N*-Nitrosodiisobutylamin (NDiPA, CAS-Nr. 601-77-4) oder einer geeigneten Alternative, frei von anderen *N*-Nitrosaminen und mit einer Konzentration von etwa 200 ng/ml in Ethanol (5.13) herzustellen.

8 Durchführung

8.1 Allgemeines

Bei der Verwendung eines von der folgenden Durchführung abweichenden Verfahrens ist dieses gegen das Verfahren in der vorliegenden Norm auf den gesamten Bereich der geprüften *N*-Nitrosamine zu validieren (siehe auch Anhang D).

Die Proben sind gegen jegliche Verunreinigungsquellen (einschließlich Latex-Schutzhandschuhe) sowie auch gegen Wärme und UV-Licht zu schützen. Die Untersuchung ist in einer Atmosphäre frei von flüchtigen *N*-Nitrosaminen und *N*-Nitrosierbaren Stoffen durchzuführen.

Die Bestimmung der aus den Saugteilen freigesetzten *N*-Nitrosamine und *N*-Nitrosierbaren Stoffe nach dieser Norm ist einschließlich der Probenherstellungsschritte (siehe A.8) mindestens in doppelter Ausführung vorzunehmen.

N-Nitrosamine werden durch UV-Licht abgebaut. Die Beanspruchung der Proben, Migrationslösungen und Extrakte durch derartige Quellen, wie Sonnenlicht oder Licht aus Leuchtstoffröhren, ist zu vermeiden. Die Proben sind durch Umhüllen mit Aluminiumfolie und die Migrationslösungen und Extrakte durch Aufbewahren in Braunglasflaschen und im Dunkeln, bei einer Temperatur von weniger als 5 °C zu schützen.

8.2 Probenherstellung

Flaschensauger sind aus der Verpackung zu entnehmen oder von den Behältnissen (üblicherweise Babyflaschen) abzunehmen.

Die gesamten Beruhigungssauger, einschließlich möglicher Glaskugeln, sind zu prüfen. Folglich sind sie ohne Beschädigung und ohne Einschneiden des Saugteils vom Beruhigungssauger abzunehmen, was das Zerstören der Kunststoffteile des Beruhigungssaugers erforderlich machen kann. Werkzeuge, die zum Entfernen des Saugteils vom Beruhigungssauger verwendet werden, dürfen das Saugteil nicht verunreinigen.

Wenn das Saugteil des Beruhigungssaugers das Schild teilweise bedeckt, dann sollte das Saugteil zusammen mit diesem Teil ebenfalls entfernt werden, ohne insgesamt eine Beschädigung zu verursachen. Ein unvermeidbares Schneiden des Saugteils ist im Prüfbericht zu vermerken.

Bei vollständig aus Elastomer bestehenden Beruhigungssaugern oder Saugern, mit unterschiedlichen Teilen aus Elastomer, sind die elastomeren Komponenten abzutrennen und als separate Proben zu prüfen.

ANMERKUNG 1 Unterschiedliche Teile bei vollständigen Beruhigungssaugern aus Elastomer sind zum Beispiel das Saugteil, die Mundplatte und der Ring. Diese unterschiedlichen Teile wurden mit unterschiedlichen Verfahren hergestellt.

ANMERKUNG 2 Zu den Elastomeren gehören Gummi, thermoplastische Elastomere (TPE) und Silikone.

Zur Bestimmung der Abgabe von *N*-Nitrosierbaren Stoffen und zur Bestimmung der Abgabe von *N*-Nitrosaminen sind separate Proben A und B, einschließlich eines separaten Vorkochens herzustellen. Sie sind ebenfalls separat der Migration zu unterziehen (siehe A.4).

In Tabelle 3 sind die Verfahren für Probe A und Probe B dargestellt.

Tabelle 3 — Ablaufdiagramm der Prüfverfahren

	Probe aus den Saugteilen von Beruhigungs- oder Flaschensaugern oder Teilen vollständiger Beruhigungssauger aus Elastomer		Blindprüfung (8.8)
8.3 Probe A zur Bestimmung von <i>N</i> -Nitrosierbaren Stoffen		8.4 Probe B zur Bestimmung vorgebildeter <i>N</i> -Nitrosamine	
8.3.1 Vorbereitung und Vorkochen		8.4.1 Vorbereitung und Vorkochen	
8.3.2 Herstellen von Migrationslösung A		8.4.2 Herstellen von Migrationslösung B	8.3.2
8.3.3 Nitrosierung von Migrationslösung A und Herstellen von Lösung A		8.4.3 Herstellen von Lösung B	8.3.3
8.5 Herstellen der Trennsäulen für Lösung A		8.5 Herstellen der Trennsäulen für Lösung B	8.5
8.6.1 Trennung der <i>N</i> -Nitrosamine von Lösung A, um Extrakt A zu erhalten		8.6.2 Trennung der <i>N</i> -Nitrosamine von Lösung B um Extrakt B zu erhalten	8.6.1
8.7.1 Einengen der <i>N</i> -Nitrosamine in Extrakt A, um Konzen- trat A zu erhalten		8.7.2 Einengen der <i>N</i> -Nitrosamine in Extrakt B, um Konzentrat B zu erhalten	8.7.1 Erhalten des Blindkonzentrats

8.3 Probe A (zur Bestimmung der *N*-Nitrosierbaren Stoffe)

8.3.1 Vorbereitung und Vorkochen

Das Probengewicht muss $(5,5 \pm 0,5)$ g sein (siehe A.3).

Die Saugteile sind entlang der Hauptachse zu schneiden, um ungefähr symmetrische Teile zu erhalten.

Es sind so viele Hälften wie nötig einzuwägen, um ein Gesamtgewicht von mindesten 5,0 g zu erzielen. Wenn das Gewicht 6,0 g überschreitet, dann ist die letzte Hälfte entlang der Hauptachse in zwei Teile zu schneiden, um ungefähr symmetrische Teile zu erhalten, und ein Stück wird entfernt. Das gleiche Verfahren ist gegebenenfalls mit dem kleinsten Stück zu wiederholen, bis das erforderliche Probengewicht erzielt ist.

Sonstige elastomere Teile eines Beruhigungssaugers sind als separate Proben zu prüfen. Sie sind entlang der Hauptachse und auch entlang der Nebenachse symmetrisch zu schneiden und gegebenenfalls auch wie oben stehend beschrieben weiter zu zerschneiden, um das geforderte Probengewicht zu erzielen.

Das Gewicht der Probe A ist als $G_{(A)}$, in g, zu vermerken.

Die Probenstücke sind in einen Becher mit (300 ± 30) ml siedendem Wasser (5.1) zu überführen und für 10 min zu kochen. Die Probenstücke sind mit einer Pinzette oder Zange dem Wasser zu entnehmen, abkühlen zu lassen, und überschüssiges Wasser ist abzuschütteln und sofort in einen Messkolben nach 8.3.2 zu überführen.

Der Kochschritt ist bei gebrauchsfertigen Erzeugnissen (siehe 3.8) auszulassen; das ist im Prüfbericht zu vermerken.

Die oben genannte Probenmenge stellt das notwendige Minimum dar. Größere Probenmengen dürfen zum Erzielen niedrigerer Nachweisgrenzen bis zu maximal 10 g verwendet werden. Die Verhältnisse von Proben zu Migrationslösungen sind beizubehalten, und das Volumen von Laborglasgefäßen, einschließlich Trennsäulen und Reagenzien ist während 8.3 bis 8.6 proportional zu erhöhen. Siehe auch A.3.

8.3.2 Herstellen von Migrationslösung A (zur Bestimmung der N-Nitrosierbaren Stoffe), siehe A.1

Ein kegelförmiger Messkolben mit einer zum Aufnehmen der Stücke der Probe A geeigneten Größe (etwa 30 ml) ist zu verwenden, damit die Stücke von der künstlichen Speichelsalzlösung bedeckt bleiben.

Die Probenstücke aus 8.3.1 sind in den Messkolben zu geben, und das Volumen von 4 ml der künstlichen Speichelsalzlösung (5.8) je Gramm der Probe ($G_{(A)} \times 4$ ml/g) ist durch Pipettieren hinzuzufügen.

Bei zum Beispiel $G_{(A)} = 5,7$ g muss das Volumen der künstlichen Speichelsalzlösung $(22,8 \pm 0,1)$ ml sein.

Der Messkolben ist mit einem Glasschliffstopfen zu verschließen und leicht zu schütteln, damit die Stücke vollständig durch die Lösung benetzt werden, und dann ist der verschlossene Messkolben für $(24 \pm 0,5)$ h in den Trockenschrank (6.2) bei (40 ± 2) °C zu stellen.

Nach dieser Zeit ist der Messkolben dem Trockenschrank zu entnehmen und fünfmal von Hand kräftig zu schütteln.

Der Messkolben ist zu öffnen, und ein Stück ist mit der Pinzette oder Zange aus der Migrationslösung herauszuheben, überschüssige Migrationslösung ist von dem Stück in den Messkolben abzuschütteln und das Stück ist dem Messkolben zu entnehmen. Das ist bei allen Stücken nacheinander durchzuführen.

Das ergibt die Migrationslösung A.

Mit der Migrationslösung A ist sofort bei 8.3.3 fortzufahren.

8.3.3 Nitrosierung von Migrationslösung A (siehe A.2) und Herstellen von Lösung A

Der Messkolben für die Migration, der die Migrationslösung A enthält, ist in einen auf (40 ± 2) °C eingestellten Trockenschrank (6.2) zu stellen und für (30 ± 1) min aufzuwärmen.

Der Messkolben ist vor Licht zu schützen.

Der Messkolben ist dem Trockenschrank zu entnehmen und fünfmal von Hand kräftig zu schütteln.

Den Messkolben ist zu öffnen und mit der Pipette $(2,5 \pm 0,1)$ ml der Salzsäurelösung (5.6.2) hinzuzufügen, der Messkolben ist zu verschließen und zum Mischen fünfmal von Hand zu schütteln.

ANMERKUNG Das ergibt einen pH-Wert von etwa 1,4, der eine Nitrosierungsreaktion ermöglicht.

Der Messkolben ist im Trockenschrank (6.2) für (30 ± 1) min bei (40 ± 2) °C stehen zu lassen.

Der Messkolben ist sofort nach Ablauf der angegebenen Dauer dem Trockenschrank zu entnehmen, mit der Pipette sind $(5,0 \pm 0,1)$ ml Natriumhydroxidlösung hinzuzufügen, und der Messkolben ist zu schütteln, um die Lösung alkalisch zu machen und die Nitrosierungsreaktion anzuhalten.

($0,5 \pm 0,01$) ml der internen Standardlösung (7.4) ist mit der Pipette hinzuzufügen und zu schütteln und mit einem Glasschliffstopfen zu verschließen. Das ist Lösung A.

Die Lösungen A sind lichtgeschützt und bei einer Lagerung über Nacht in einem Kühlschrank aufzubewahren. Die Lösungen können für längere Zeiträume in geeigneten Behältern eingefroren werden.

8.4 Probe B (zur Bestimmung vorgebildeter *N*-Nitrosamine)

8.4.1 Vorbereitung und Vorkochen

Probe B ist analog zu 8.3.1 herzustellen.

Das Gewicht der Probe B ist als $G_{(B)}$, in g, zu vermerken.

Die Probenstücke sind in einen Becher mit (300 ± 30) ml siedendem Wasser (5.1) zu überführen und für 10 min zu kochen. Die Stücke sind mit einer Pinzette oder Zange dem Wasser zu entnehmen, abkühlen zu lassen, und überschüssiges Wasser ist abzuschütteln. Sofort in einen Messkolben nach 8.4.2 überführen.

Der Kochschritt ist bei gebrauchsfertigen Erzeugnissen auszulassen; das ist im Prüfbericht zu vermerken.

8.4.2 Herstellen der Migrationslösung B (zur Bestimmung vorgebildeter *N*-Nitrosamine)

Die Migrationslösung B ist analog zu 8.3.2 herzustellen.

Mit der Migrationslösung B ist sofort bei 8.4.3 fortzufahren.

8.4.3 Herstellen von Lösung B

Der Migrationslösung B aus 8.4.2 sind ($0,6 \pm 0,01$) ml Natriumhydroxidlösung (7.5.2) hinzuzufügen, und der Messkolben ist zu schütteln.

($0,5 \pm 0,01$) ml der internen Standardlösung (7.4) hinzufügen und den Messkolben verschließen. Das ist Lösung B.

Die Lösung B ist lichtgeschützt und bei einer Lagerung über Nacht in einem Kühlschrank aufzubewahren. Die Lösungen können für längere Zeiträume in geeigneten Behältern eingefroren werden.

8.5 Herstellen der Trennsäulen für die Lösungen A und B

Die für die Lösungen A und B verwendeten Trennsäulen sind identisch herzustellen.

($25 \pm 0,5$) g Kieselgur (5.10) werden in die Glassäule (6.3) gefüllt, die am Boden durch Glaswolle (6.9) verschlossen ist. Nach oben wird die Säule mit der Sinterglasfritte (6.4) oder mit einer etwa 1 cm dicken Schicht Seesand (5.15) abgedeckt.

Beim Füllen der Säule wird sie an der Außenseite leicht beklopft, um eine gleichmäßigere Packung zu erzielen.

8.6 Abtrennen von *N*-Nitrosaminen

8.6.1 Aus Lösung A

Der die Lösung A (8.3.3) enthaltende Messkolben für die Migrationslösung wird verschlossen und fünfmal von Hand kräftig geschüttelt und der Inhalt wird langsam auf die Trennsäule (6.5) überführt.

Den Inhalt innerhalb von (15 ± 1) min von der porösen Matrix absorbieren lassen.

Eine trockene Zone mit einer Höhe von 50 mm bis 70 mm verbleibt im unteren Teil der Säule.

Unterdessen sind $(30 \pm 0,5)$ ml Dichlormethan (5.9) dem Messkolben für die Migrationslösung hinzuzufügen und fünfmal von Hand kräftig zu schütteln. Nach der Absorption durch die poröse Matrix ist nach (15 ± 1) min das Dichlormethan aus dem Messkolben für die Migrationslösung auf die Säule zu geben. Der Extrakt ist im Verdampferkolben (6.5) aufzufangen, wobei die Tropfgeschwindigkeit mit dem PTFE-Küken (6.3) eingestellt wird. Der Zusatz von Dichlormethan muss gleichbleibend sein, und die Oberfläche der Säule darf nicht austrocknen.

Nachdem der erste Teil auf der Säule ist, einen zweiten Teil von $(30 \pm 0,5)$ ml Dichlormethan dem Messkolben für die Migrationslösung hinzufügen, fünfmal von Hand kräftig schütteln und der Säule, wie oben stehend beschrieben, hinzufügen.

Nach dem Auffangen des Extraktes dem Verdampferkolben (6.5) $(1 \pm 0,01)$ ml Ethanol (5.13) hinzufügen.

Das ergibt Extrakt A.

ANMERKUNG Während der Elution mit Dichlormethan schrumpft die Höhe der Trockenzone auf 15 mm bis 30 mm. Dieser Vorgang kann wegen der unterschiedlichen Tönung von probenfeuchtem und dichlormethanfeuchtem Kieselgur gut beobachtet werden. Wichtig ist, dass die Kapazität dieser Trockenzone nicht aufgebraucht wird, da dann die Probe Wasser enthalten kann.

8.6.2 Aus Lösung B

Zum Erhalten von Extrakt B ist auf genau die gleiche Weise wie in 8.6.1 zu verfahren.

8.7 Einengen von *N*-Nitrosaminen

8.7.1 In Extrakt A

8.7.1.1 Zum Verdampferkolben (6.5), der das Extrakt A aus 8.6.1 enthält, sind zwei oder drei Siedekörnchen (5.12) zuzugeben, und der Konzentrador oder Verdampfer (6.5) ist anzuschließen. Die Lösung ist durch Verdampfen auf ein Volumen von (5 ± 1) ml im Wasserbad (6.6), bei (40 ± 2) °C und Ansteigen der Temperatur auf (60 ± 2) °C bei 2 °C/min einzuengen, um Probenverlust zu vermeiden. Die Lösung ist abkühlen zu lassen, und die Wände des Verdampfers oder Einengungssystems werden mit etwa 2 ml Dichlormethan (5.9) gespült.

8.7.1.2 Der das Konzentrat enthaltende Verdampferkolben ist vom Verdampfer abzunehmen, und die Lösung ist durch vorsichtiges Überleiten eines Stickstoffstroms (5.11) über die Lösung im Einengungsgefäß auf ein Volumen von etwa 1 ml einzuengen.

Der Stickstoffstrom ist zu steuern, um sicherzustellen, dass die auf der Oberfläche erzeugte Vertiefung des eingeeengten Extraktes 4 mm bis 5 mm nicht überschreitet; anderenfalls kann es zu einem Überlaufen oder Unterkühlen des Extraktes kommen.

Wegen der Flüchtigkeit einiger *N*-Nitrosamine ist es wichtig, dass die Volumina in der Einengungsstufe nicht unter 0,8 ml fallen.

Die Lösung bis zum Angleichen an die Raumtemperatur stehen lassen und dann in eine Rollrandampulle überführen und mit der Verschlusszange (6.8) mit Septum und Bördelring (6.7) verschließen.

Das ergibt Konzentrat A.

8.7.2 In Extrakt B

Zum Erhalten von Konzentrat B aus Extrakt B aus 8.6.2 ist auf genau die gleiche Weise wie in 8.7.1 zu verfahren.

8.8 Blindversuch

Ein Blindversuch ist durchzuführen, bei dem alle in Tabelle 3 festgelegten gewählten Verfahren, einschließlich der Nitrosierung wie von Migrationslösung A, aber ohne die Saugteile im Migrationsschritt (8.3.2) eingehalten werden.

Das ergibt die Blindprobe des Konzentrats.

8.9 Untersuchung

8.9.1 Kalibrierfunktion

Eine geeignete Menge der Kalibrierlösungen und der Kalibrierblindprobe (7.3) wird in die mit dem Chemolumineszenzdetektor (6.11) gekoppelten GC-Einrichtungen injiziert, und die Untersuchung ist unter Bedingungen laufen zu lassen, die das Einhalten der in 6.12 festgelegten Bedingungen sicherstellt.

ANMERKUNG Geeignete Chromatographieeinrichtungen und Parameter sind in Anhang B angegeben.

Eine Kalibrierfunktion ist für jede Verbindung aufzustellen:

Für jeden Stoff i ist das gemessene Verhältnis der Peakflächen $A_{i,e}/A_{int,e}$ gegen das entsprechende Verhältnis der Massenkonzentration $C_{i,e}/C_{int,e}$ für jede Kalibrierebene e aufzutragen; dabei ist:

$A_{i,e}$ Peakfläche von Stoff i , für die Kalibrierebene e ;

$A_{int,e}$ Peakfläche des internen Standards, für die Kalibrierebene e ;

$C_{i,e}$ Massenkonzentration von Stoff i , für die Kalibrierebene e ;

$C_{int,e}$ Massenkonzentration des internen Standards, für die Kalibrierebene e ;

i spezifische einzelne N -Nitrosamine, wie in Tabelle 2 angegeben;

e Konzentration der in 7.3 verwendeten Kalibrierlösungen (z. B. 500 ng/ml, 100 ng/ml, 10 ng/ml, 5 ng/ml und Kalibrierblindprobe);

int Konzentration des in 7.4 verwendeten internen Standards (z. B. 100 ng/ml NDIPA).

Die Kalibrierfunktion muss in dem den Probenkonzentrationen entsprechenden Bereich linear sein.

Die Kalibrierfunktion ist für jeden Stoff i durch lineare Progression zu bestimmen:

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

Dabei ist

a_i die Steigung der Kalibrierkurve von Stoff i ;

b_i der Ordinatenabschnitt der Kalibrierkurve von Stoff i .

Dieses Kalibrierverfahren ist ein Standardwerkzeug der analytischen Chromatographiesoftware.

8.9.2 Berechnung von Probenkonzentration und Massenkonzentration

Die geeignete Menge der Messproben s , bei der es sich um Konzentrat A (8.7.1), Konzentrat B (8.7.2) und das Konzentrat der Blindprobe handelt, wird in die mit dem Chemolumineszenzdetektor (6.11) gekoppelten GC-Einrichtungen injiziert, und die Untersuchung ist unter Bedingungen laufen zu lassen, die das Einhalten der in 6.12 festgelegten Bedingungen sicherstellt.

ANMERKUNG 1 Geeignete Chromatographieeinrichtungen und Parameter sind in Anhang B angegeben.

Die Massenkonzentration ist für jeden Stoff i , in mg/ml, mithilfe der in 8.9.1 erhaltenen Kalibrierfunktionen zu bestimmen.

$$C_{i,s} = [(A_{i,s} / A_{int,s} - b_i) / a_i] \times C_{int,s} \quad (2)$$

Dabei ist

- $A_{i,s}$ die Peakfläche von Stoff i , für die Probe s ;
- $A_{int,s}$ die Peakfläche des internen Standards, für die Probe s ;
- $C_{i,e}$ die Massenkonzentration von Stoff i , für die Probe s ;
- $C_{int,e}$ die Massenkonzentration des internen Standards, für die Probe s .

ANMERKUNG 2 Dieses Quantifizierungsverfahren ist ein Standardwerkzeug der analytischen Chromatographiesoftware.

Die Untersuchung ist innerhalb von 24 h nach der Herstellung des Extrakts durchzuführen. Wenn das nicht möglich ist, sind die Extrakte und Standards bei Temperaturen unter 5 °C im Dunkeln zu lagern.

9 Berechnung der Ergebnisse

9.1 Allgemeines

Die Massenkonzentration für jede Probe s , in mg N -Nitrosamin/kg der Elastomer- oder Gummiprobe ist wie folgt zu bestimmen:

$$C_{i,s} [\text{mg / kg}] = C_{i,s} [\text{mg / ml}] \times V [\text{ml}] / G [\text{kg}] \quad (3)$$

Dabei ist

- $V [\text{ml}]$ das Endvolumen der Konzentrate, Standardwert nach 8.7 (etwa 1 ml);
- $G [\text{kg}]$ das Probengewicht ($G_{(A)}$ in 8.3.1 oder $G_{(B)}$ in 8.4.1, auf kg umgerechnet).

Falls für ein betrachtetes bestimmtes N -Nitrosamin das Detektorsignal am Gerät kleiner als das Dreifache des Hintergrundrauschens ist, ist dieser Stoff als „Nicht nachgewiesen“ oder „ND“ (Not Detected) zu dokumentieren und sein Wert ist als Null zu behandeln. Die Quantifizierungsgrenze (LOQ) für jede N -Nitrosaminart ist in Tabelle 2 angegeben.

Die Analyse der Konzentrat-Blindprobe muss außer beim internen Standard zu „ND“ führen; anderenfalls ist die Quelle für die Verunreinigung zu überprüfen und zu bestimmen, und alle Schritte sind bis zum Erzielen von „ND“ erneut durchzuführen.

Die Wiederfindung des internen Standards muss bei Berechnung als das Verhältnis zwischen der absoluten Wiederfindung (Peakfläche/zugefügte Menge) des internen Standards in der Konzentrat-Blindprobe (8.8) und in der Kalibrier-Blindlösung (7.3) $\geq 65 \%$ sein.

ANMERKUNG Diese Anforderung verhindert einen übermäßigen Verlust an N -Nitrosaminen im Einengungsschritt (8.7).

Peaks eines N -Nitrosamins, die ungeachtet aller in 6.12 dargelegten Vorkehrungen nicht identifiziert werden können, sind vereinbarungsgemäß als das früher und das (unmittelbar) neben ihm eluierende N -Nitrosamin zu quantifizieren und als „nicht identifiziert, quantifiziert als (das angegebene) N -Nitrosamin“ zu vermerken.

BEISPIEL Ein Peak eines nicht identifizierten *N*-Nitrosamins wird zwischen den Peaks von NMOR und NEPhA beobachtet (NMOR eluiert vor und NEPhA nach dem nicht identifizierten *N*-Nitrosamin). Dieses nicht identifizierte *N*-Nitrosamin ist auf der Kalibrierkurve von NMOR basierend zu quantifizieren und als „nicht identifiziertes, als NMOR quantitativ bestimmtes“ *N*-Nitrosamin aufzuzeichnen.

Jede Probe ist mindestens zweimal zu prüfen (siehe 8.1). Dementsprechend ist der arithmetische Mittelwert der Massenkonzentration jedes einzelnen Stoffes für die Berechnungen in 9.2 und 9.3 zu verwenden.

9.2 Menge an *N*-Nitrosierbaren Stoffen, die aus Probe A migrieren und als *N*-Nitrosamine aus dem Konzentrat A analysiert und angegeben werden

Die Menge jedes einzelnen *N*-Nitrosierbaren Stoffes ist durch Subtraktion der Menge des entsprechenden, aus Probe B migrierten und aus dem Konzentrat B bestimmten *N*-Nitrosamins zu berichtigen (siehe 9.3).

Die Gesamtmenge der aus der Probe migrierenden *N*-Nitrosierbaren Stoffe ist durch Addieren der Mengen der im Konzentrat A bestimmten einzelnen *N*-Nitrosamine nach der oben stehenden Berichtigung zu berechnen.

Das Ergebnis ist, wenn die Gesamtmenge der *N*-Nitrosierbaren Stoffe 0,1 mg/kg überschreitet, nach Abschnitt 10 zu bestätigen.

Wenn sich nach dem Verfahren in Abschnitt 10 einige Peaks als falsch positiv herausstellen, sind die entsprechenden *N*-Nitrosierbaren Stoffe als „Nicht nachgewiesen“ oder „ND“ zu vermerken und ihre Ergebnisse sind mit „0“ zu behandeln. Die Gesamtmenge der *N*-Nitrosierbaren Stoffe einschließlich nur derjenigen Peaks infolge bestätigter *N*-Nitrosamine ist neu zu berechnen.

9.3 Menge an *N*-Nitrosaminen, die aus Probe B migrieren und als *N*-Nitrosamine aus dem Konzentrat B analysiert und angegeben werden

Die Gesamtmenge der aus der Probe migrierenden *N*-Nitrosamine ist durch Addieren der Mengen der im Konzentrat B bestimmten einzelnen *N*-Nitrosamine zu berechnen.

Das Ergebnis ist, wenn die Gesamtmenge der *N*-Nitrosamine 0,01 mg/kg überschreitet, nach Abschnitt 10 zu bestätigen.

Wenn sich nach dem Verfahren in Abschnitt 10 einige Peaks als falsch positiv herausstellen, sind die entsprechenden *N*-Nitrosamine als „Nicht nachgewiesen“ oder „ND“ zu vermerken und ihre Ergebnisse sind mit „0“ zu behandeln. Die Gesamtmenge der *N*-Nitrosierbaren Stoffe einschließlich nur derjenigen Peaks infolge bestätigter *N*-Nitrosamine ist neu zu berechnen.

10 Bestätigung der nachgewiesenen *N*-Nitrosamine

10.1 Identifizierte *N*-Nitrosamine und ihre Mengen sind nach einem der folgenden Verfahren zu bestätigen:

- Ein Aliquot des restlichen Konzentrats A wird in ein durchsichtiges, UV-durchlässiges Glasgefäß eingebracht und für (30 bis 60) min einer UV-Strahlung bei einer Wellenlänge von 366 nm ausgesetzt; in einem separaten Gefäß wird eine auf ähnliche Weise hergestellte Standardlösung (höchste Kalibrierkonzentration) behandelt. Bei der GC-Analyse verschwinden einige Peaks infolge des Vorhandenseins von *N*-Nitrosaminen oder werden durch Zersetzung stark verkleinert. Wenn jedoch Peaks nach der Bestrahlung nicht wesentlich verkleinert sind, ist das ein Hinweis darauf, dass der ursprüngliche Peak keinem *N*-Nitrosamin entsprach. Für Konzentrat B wiederholen.

ANMERKUNG Dieses Verfahren ist nur für qualitative Bewertungen geeignet. Wenn eine Standardlösung derselben Quelle der UV-Strahlung ausgesetzt wird, wird damit auch die Wirksamkeit der Strahlungsquelle sichergestellt.

- Durch Verwendung mindestens einer anderen Säule mit einer stationären Phase unterschiedlicher Polarität; oder
- Durch Massenspektrometrie (siehe Anhang D).