



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4773—2017

玩具材料中 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基 化合物迁移量的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of the migration of *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances in toys materials—High performance liquid chromatography couples with tandem mass spectrometry

(BS EN 71-12:2013, Safety of toys—Part 12: *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable, MOD)

2017-05-12 发布

2017-12-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用重新起草法修改采用 BS EN 71-12:2013《玩具安全 第 12 部分：*N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基化合物》。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：杨荣静、望秀丽、董涵、卫碧文、李敬、黄理纳、高欢、林莉、郑翊。

玩具材料中 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基 化合物迁移量的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了玩具材料中 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基化合物迁移量的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于指画颜料中 *N*-亚硝基二乙氧基胺迁移量,以及橡胶制玩具中 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基化合物迁移量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

3.1 以水为提取液,提取指画颜料样品中的 *N*-亚硝基二乙氧基胺(NDELA),以高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)测定 *N*-亚硝基二乙氧基胺在水中的迁移量,外标法定量。

3.2 以人工唾液盐为提取液,提取橡胶制玩具样品中的 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基化合物,*N*-亚硝基化合物在酸性条件下亚硝胺化后,以高效液相色谱-串联质谱法测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 碳酸氢钠。

4.2 氯化钠。

4.3 碳酸钾。

4.4 亚硝酸钠。

4.5 甲醇:色谱纯。

4.6 甲酸:色谱纯。

4.7 浓盐酸。

4.8 氢氧化钠。

4.9 盐酸溶液 I (浓度为 1 mol/L):量取 8.2 mL 浓盐酸(4.7),加少量水稀释,并转移到 100 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。

4.10 盐酸溶液 II (浓度为 0.1 mol/L):量取 0.82 mL 浓盐酸(4.7),加少量水稀释,并转移到 100 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。

4.11 氢氧化钠溶液 I (浓度为 1 mol/L): 称取 4.0 g 氢氧化钠(4.8), 加少量水溶解, 并转移到 100 mL 的容量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀。

4.12 氢氧化钠溶液 II (浓度为 0.1 mol/L): 称取 0.4 g 氢氧化钠(4.8), 加少量水溶解, 并转移到 100 mL 的容量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀。

4.13 人工唾液盐溶液: 称取 4.2 g 碳酸氢钠(4.1), 0.5 g 氯化钠(4.2), 0.2 g 碳酸钾(4.3) 和 30 mg 亚硝酸钠(4.4) 溶解于水中, 并用水定容至 1 L, 需用盐酸溶液 II (4.10) 或氢氧化钠溶液 II (4.12) 调节 pH 至 9.0, 摇匀后密封保存。人工唾液盐溶液现配现用。

4.14 N-亚硝胺标准品: 见附录 A。

4.15 标准储备溶液:

- a) N-亚硝基二乙氧基胺标准储备溶液: 准确称取适量的 N-亚硝基二乙氧基胺标准品(4.14), 用水配制成浓度均为 200 mg/L 的标准储备溶液。
- b) N-亚硝胺混合标准储备溶液: 分别准确称取适量的 N-亚硝胺标准品(4.14), 用甲醇(4.5) 配制成 N-亚硝胺浓度均为 200 mg/L 的混合标准储备溶液。

注: 标准储备溶液在 0℃~4℃ 环境下避光保存, 有效期 3 个月。

4.16 标准工作溶液:

- a) N-亚硝基二乙氧基胺标准工作溶液: 以水为稀释溶剂, 将 N-亚硝基二乙氧基胺标准储备溶液 [4.15a)] 逐级稀释, 配制成 N-亚硝基二乙氧基胺浓度分别为 0.005 mg/L、0.010 mg/L、0.050 mg/L、0.100 mg/L、0.200 mg/L、0.500 mg/L 的标准工作溶液。
- b) N-亚硝胺混合标准工作溶液: 以人工唾液盐溶液(4.13) 为稀释溶剂, 将 N-亚硝胺混合标准储备溶液 [4.15b)] 逐级稀释, 配制浓度分别为 0.005 mg/L、0.010 mg/L、0.050 mg/L、0.100 mg/L、0.200 mg/L、0.500 mg/L 的标准工作溶液。标准工作溶液现配现用。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子化电离源。
- 5.2 分析天平: 感量 0.1 mg。
- 5.3 振荡仪。
- 5.4 恒温水浴振荡器, 温度可维持在 (40±2)℃。
- 5.5 离心机: 转速不低于 2 500 r/min。
- 5.6 锥形瓶: 棕色, 具磨口塞, 100 mL。
- 5.7 离心管: 具平盖, 15 mL。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 指画颜料试样的制备

取约 5.0 g 指画颜料样品, 混匀后作为待测试样。

6.1.2 橡胶制玩具样品的制备

6.1.2.1 气球试样的制备

取完整的气球数个, 沿纵向切成四等分作为待测试样。

6.1.2.2 其他橡胶玩具试样的制备(除气球样品外)

如果整个玩具或者玩具中橡胶部分的表面积小于 10 cm^2 , 则不需将玩具或者其橡胶部分剪碎, 橡胶玩具或取下玩具中橡胶部分直接作为试样待测。样品数量不少于 0.2 g 。

如果玩具中测试部分的表面积大于 10 cm^2 , 选择其中表面积最接近 10 cm^2 的部分, 剪切成表面积约 $(10 \pm 1)\text{ cm}^2$ 的试样, 剪切样品时, 应保证因剪切而形成的断面积最小且边缘光滑。当客户有需求或对测试结果有疑问时, 可将橡胶部分直接作为待测试样。

6.2 N-亚硝基化合物的提取

6.2.1 指画颜料

准确称取约 2.0 g (精确至 0.001 g) 制备好的指画颜料试样(6.1.1)于锥形瓶(5.6)中, 加入 20.0 mL 水, 振荡 1 min 使试样充分润湿, 置于恒温水浴振荡器(5.4)提取 15 min , 再以离心机(5.5)分离 15 min , 取 5.0 mL 上清液置于离心管(5.7)中再以离心机(5.5)分离 15 min , 取上清液约 1.0 mL 作为提取液待测。

6.2.2 橡胶制玩具

6.2.2.1 气球试样

准确称取气球试样(6.1.2.1) $3.5\text{ g} \sim 4.5\text{ g}$ (精确至 0.001 g), 置于锥形瓶(5.6)中, 按人工唾液盐溶液体积(单位为 mL)与试样重量(单位为 g)比值为 10.0 的比例准确加入 $35\text{ mL} \sim 45\text{ mL}$ 温度为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的人工唾液盐溶液(4.13), 并使液体覆盖试样。将具塞的锥形瓶放入温度为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的恒温水浴振荡器(5.4)中振荡提取 $(60 \pm 3)\text{ min}$, 取上清液作为提取液待测。

6.2.2.2 其他橡胶玩具试样(气球样品除外)

取已制备好的试样(6.1.2.2)准确称重(精确至 0.001 g), 置于锥形瓶(5.6)中, 按人工唾液盐溶液体积(单位为 mL)与试样重量(单位为 g)比值为 10.0 的比例准确加入适量温度为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的人工唾液盐溶液(4.13), 并使液体覆盖试样。将具塞的锥形瓶放入温度为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的恒温水浴振荡器(5.4)中振荡提取 $(60 \pm 3)\text{ min}$, 取上清液作为提取液待测。

6.2.3 提取液的亚硝化

准确移取 5.0 mL 提取液(6.2.2.1 或 6.2.2.2)置于锥形瓶(5.6)中, 加入 0.5 mL 盐酸溶液 I (4.9), 具塞, 充分振荡 5 min 后放入温度为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 恒温水浴振荡器(5.4), 振荡 $(30 \pm 1)\text{ min}$, 取出并加入 1.0 mL 氢氧化钠溶液 I (4.11), 再充分振荡 5 min , 取约 1.0 mL 亚硝化后的提取液待测。

6.3 测定

6.3.1 高效液相色谱-串联质谱工作条件

由于测试结果取决于所使用的仪器, 因此不可能给出色谱分析的通用参数, 设定的参数应保证测定时, 被测组分与其他组分能够得到有效的分离, 以下参数可供参考:

a) 高效液相色谱条件:

- 1) 色谱柱: C18 反相高效液相色谱柱 ($3.0\text{ mm} \times 100\text{ mm}, 1.8\text{ }\mu\text{m}$) 或相当者;
- 2) 流动相: A 为 0.1% 的甲酸水溶液, B 为甲醇;
- 3) 流速: 0.3 mL/min ;

- 4) 梯度洗脱梯度: 参见附录 B;
- 5) 柱温: 40 °C;
- 6) 进样量: 10 μL。
- b) 串联质谱条件:
参见附录 C。

6.3.2 定性测定

进行样品测定时, 如果检出的质量色谱法保留时间与标准样品一致, 并且在扣除背景后的样品谱图中, 各定性离子的相对丰度与浓度接近的相同条件下得到的标准溶液谱图相比, 最大允许相对偏差不超过表 1 中规定的范围, 则可判断样品中存在对应的被测物。

表 1 定性确认时相对离子丰度的最大允许相对偏差

相对离子丰度	>50 %	>20 %~50 %	>10 %~20 %	≤10 %
允许的相对偏差	±20 %	±25 %	±30 %	±50 %

6.3.3 定量测定

按高效液相色谱-串联质谱条件(6.3.1)对标准工作溶液(4.16)和提取液(6.2)分别进样测定, 以标准物质色谱峰面积为纵坐标, 工作溶液浓度(mg/L)为横坐标, 绘制标准工作曲线(0.005 mg/L~0.500 mg/L), 样品溶液中目标物的响应值应在标准工作曲线的线性范围内, 外标法定量。在上述色谱条件下, 13 种 N-亚硝胺的离子流色谱图参见附录 D。

6.4 空白试验

除不加试样外, 按上述步骤进行空白试验。

7 结果计算

7.1 提取液中 N-亚硝基化合物浓度

提取液和亚硝化后的提取液中 N-亚硝基类化合物单体浓度分别按式(1)或式(2)计算:

$$C_i = \frac{A_i - b_i}{k_i} \dots\dots\dots (1)$$

$$C'_i = \frac{A_i - b_i}{k_i} \dots\dots\dots (2)$$

式中:
 C_i ——提取液中 N-亚硝基类化合物 i 的浓度, 单位为毫克每千克(mg/kg);
 C'_i ——亚硝化后的提取液中 N-亚硝基类化合物 i 的浓度, 单位为毫克每千克(mg/kg);
 A_i ——N-亚硝基类化合物 i 的色谱峰面积;
 b_i ——N-亚硝基类化合物 i 标准曲线的截距;
 k_i ——N-亚硝基类化合物 i 标准曲线的斜率。

7.2 指画颜料试样中 N-亚硝基二乙氧基胺迁移量的计算

指画颜料试样中 N-亚硝基二乙氧基胺迁移量按式(3)计算, 保留 3 位有效数字:

$$M_1 = \frac{(C_1 - C_{10}) \times V \times f}{m_1} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

M_1 ——指画颜料试样中 N -亚硝基二乙氧基胺的迁移量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C_1 ——提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺浓度值,单位为毫克每升(mg/L);

C_{10} ——空白试验提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺的浓度值,单位为毫克每升(mg/L);

V ——提取定容体积,单位为毫升(mL);

f ——试液的稀释倍数;

m_1 ——指画颜料试样的质量,单位为克(g)。

7.3 橡胶制玩具试样中 N -亚硝胺和 N -亚硝基化合物迁移量的计算

7.3.1 橡胶制玩具试样中 N -亚硝胺迁移量的计算

橡胶制玩具试样中 N -亚硝胺迁移量的计算按式(4)计算,保留 3 位有效数字:

$$M_i = \frac{(C_i - C_{i0}) \times V \times f}{m_2} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

M_i ——试样中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺单体 i 的迁移量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C_i ——提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺单体 i 浓度,单位为毫克每升(mg/L);

C_{i0} ——空白试验提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺 i 浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试液定容体积,单位为毫升(mL);

f ——试液的稀释倍数;

m_2 ——橡胶制玩具试样质量,单位为克(g)。

7.3.2 橡胶制玩具试样中 N -亚硝基化合物迁移量的计算

橡胶制玩具试样中 N -亚硝基化合物迁移量的计算按式(5)计算,保留 3 位有效数字:

$$M'_i = \frac{(C'_i - C_{i0}) \times V \times f}{m_2} - M_i \dots\dots\dots(5)$$

式中:

M'_i ——橡胶制玩具试样中 N -亚硝基化合物 i 的迁移量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C'_i ——亚硝化后的提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺 i 浓度,单位为毫克每升(mg/L);

C_{i0} ——空白试验亚硝化后提取液中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺 i 浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试液定容体积,单位为毫升(mL);

f ——试液的稀释倍数;

m_2 ——橡胶制玩具试样的质量,单位为克(g);

M_i ——试样中 N -亚硝基二乙氧基胺、 N -亚硝基二甲胺等 13 种 N -亚硝胺单体 i 的迁移量,单位为毫克每千克(mg/kg);

8 检出限、回收率和精密度

8.1 检出限

N-亚硝胺迁移量的检测低限均为 0.005 mg/kg。

8.2 回收率

指画颜料中 *N*-亚硝基二乙氧基胺迁移量测试的回收率为 85%~115%。

橡胶玩具中 *N*-亚硝胺和 *N*-亚硝基化合物迁移量测试的回收率为 85%~115%。

8.3 精密度

在 95% 的置信度前提下,在重复性条件下获得的独立测试结果的绝对差值不大于测定值的算术平均值的 20%。

9 测试报告

测试报告应至少包括以下内容:

- a) 样品的来源及描述;
- b) 本标准的编号(包括年号);
- c) 样品的制备描述;
- d) 测试结果:报告测试结果;
- e) 与本标准的任何偏离;
- f) 在测试中观察到的异常现象;
- g) 测试日期。

附 录 A
(规范性附录)

待测定的 13 种 *N*-亚硝胺的中文名称、英文名称及 CAS 号

待测定的 13 种 *N*-亚硝胺信息见表 A.1。

表 A.1 待测定的 13 种 *N*-亚硝胺的中文名称、英文名称及 CAS 号

序号	<i>N</i> -亚硝胺名称	英文名称(缩写)	CAS 号
1	<i>N</i> -亚硝基二乙氧基胺	<i>N</i> -Nitrosodiethanolamine(NDELA)	1116-54-7
2	<i>N</i> -亚硝基二甲胺	<i>N</i> -Nitrosodimethylamine(NDMA)	62-75-9
3	<i>N</i> -亚硝基吗啉	<i>N</i> -Nitrosomorpholine(NMOR)	59-89-2
4	<i>N</i> -亚硝基二乙胺	<i>N</i> -nitrosodiethylamine(NDEA)	55-18-5
5	<i>N</i> -亚硝基哌啶	<i>N</i> -Nitrosopiperidine(NPIP)	100-75-4
6	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -甲基苯胺	<i>N</i> -Nitroso- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -aniline(NMPhA)	614-00-6
7	<i>N</i> -亚硝基二异丙胺	<i>N</i> -Nitrosodi-iso-propylanime(NDiPA)	601-77-4
8	<i>N</i> -亚硝基二丙胺	<i>N</i> -Nitrosodi- <i>n</i> -propylanime(NDPA)	621-64-7
9	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -乙基苯胺	<i>N</i> -Nitroso- <i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -aniline(NEPhA)	612-64-6
10	<i>N</i> -亚硝基二异丁胺	<i>N</i> -Nitrosodi-iso-butylamine(NDiBA)	997-95-5
11	<i>N</i> -亚硝基二丁胺	<i>N</i> -Nitrosodi- <i>n</i> -butylamine(NDBA)	924-16-3
12	<i>N</i> -亚硝基二苄胺	<i>N</i> -Nitrosodibenzylamine(NDBzA)	5336-53-8
13	<i>N</i> -亚硝基二异壬胺	<i>N</i> -Nitrosodi-iso-nonylamine(NDiNA)	1207995-62-7

附 录 B
(资料性附录)
流动相梯度洗脱程序

表 B.1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	90	10
10	2	98
13	2	98
13.1	90	10
18	90	10

附 录 C
(资料性附录)

质谱/质谱条件及选择离子参数设定表

离子源:电喷雾离子化电离源(ESI),正离子监测;
扫描方式:多反应通道监测(MRM);
碰撞气:高纯氮气;
干燥气:氮气;
干燥气温度:350 ℃;
干燥气流量:10 L/min;
毛细管电压:4 000 V;
雾化器压力:345 kPa。
选择离子参数设定及保留时间表见表 C.1。

表 C.1 选择离子参数设定及保留时间表

序号	测定物质	母离子(m/z)	子离子(m/z)	定量离子(m/z)	保留时间/min
1	N-亚硝基二乙氧基胺	135	74 104	74	1.83
2	N-亚硝基二甲胺	75	43 58	58	2.33
3	N-亚硝基吗啉	117	86 87	87	2.75
4	N-亚硝基二乙胺	103	47 75	75	5.30
5	N-亚硝基哌啶	115	41 69	41	5.74
6	N-亚硝基-N-甲基苯胺	137	66 107	66	7.93
7	N-亚硝基二异丙胺	131	43 89	89	7.88
8	N-亚硝基二丙胺	131	43 89	89	8.35
9	N-亚硝基-N-乙基苯胺	151	77 121	77	9.04
10	N-亚硝基二异丁胺	159	57 103	57	9.99
11	N-亚硝基二丁胺	159	57 103	57	10.42
12	N-亚硝基二苄胺	227	65 91	91	10.97
13	N-亚硝基二异壬胺	299	57 71	57	14.02

附录 D
(资料性附录)

13 种 N-亚硝胺的离子流色谱图

13 种 N-亚硝胺的离子流色谱图见图 D.1。

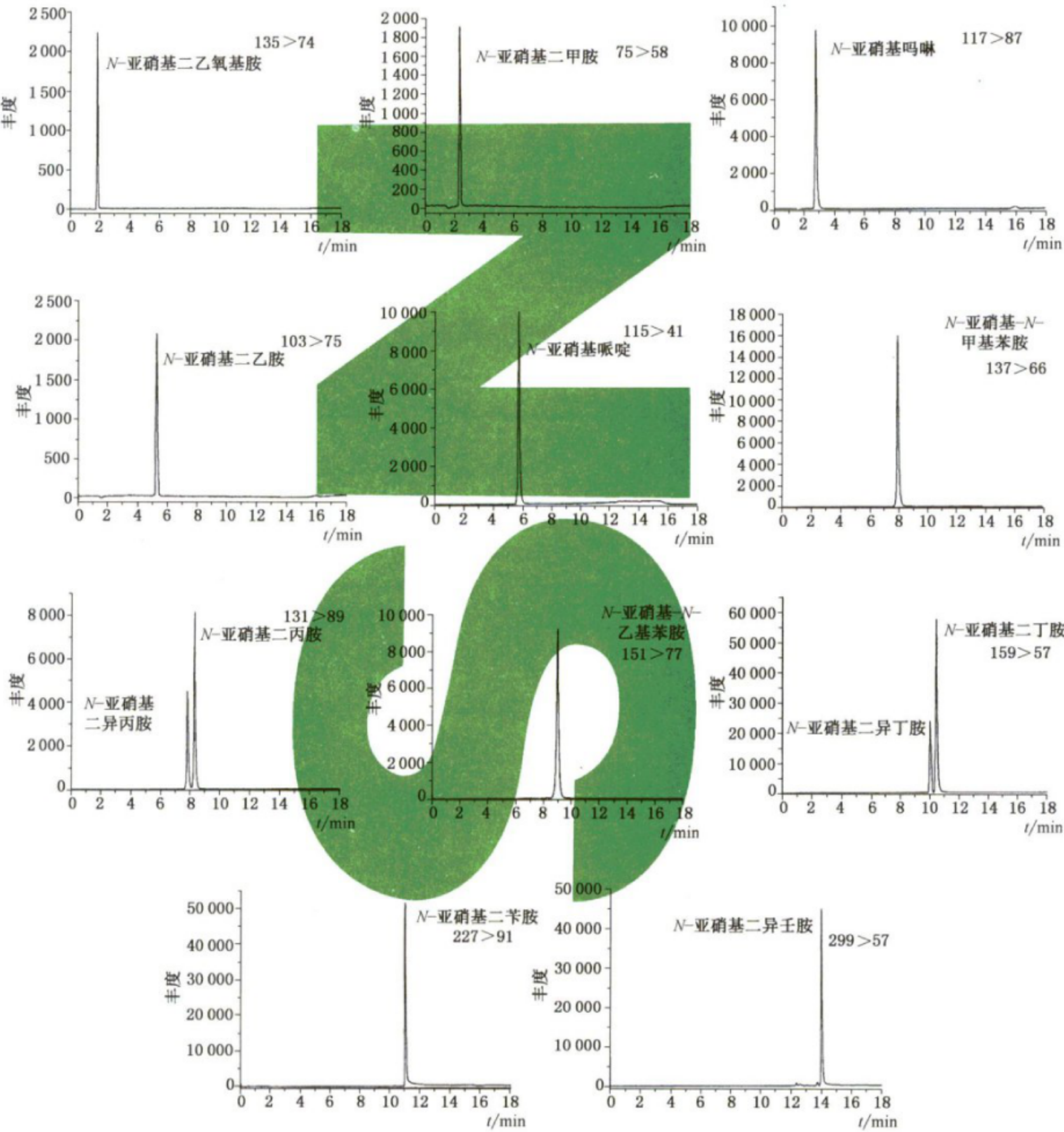


图 D.1 13 种 N-亚硝胺的离子流色谱图