

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7535-1:2010

ISO 17226-1:2008

Xuất bản lần 1

DA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALDEHYT

BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA HỌC –

PHẦN 1: PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Leather – Chemical determination of formaldehyde content –

Part 1: Method using high performance liquid chromatography

HÀ NỘI - 2010

Lời nói đầu

TCVN 7535-1:2010 thay thế TCVN 7535:2005.

TCVN 7535-1:2010 hoàn toàn tương đương với ISO 17226-1:2008.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 7535 Da – Xác định hàm lượng formaldehyt bằng phương pháp hóa học gồm hai phần:

- TCVN 7535-1:2010 (ISO 17226-1:2008), Phần 1: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao;
- TCVN 7535-2:2010 (ISO 17226-2:2008, Cor 1:2009), Phần 2: Phương pháp so màu

TCVN 7535-1:2010 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC 120 Sản phẩm da biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Da – Xác định hàm lượng formaldehyt bằng phương pháp hóa học –

Phần 1: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Leather – Chemical determination of formaldehyde content –

Part 1: Method using high performance liquid chromatography

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định formaldehyt tự do và formaldehyt giải phóng có trong da. Phương pháp này dựa trên sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Phương pháp này có chọn lọc và không nhạy đối với chất chiết có màu.

Lượng formaldehyt thu được là lượng formaldehyt tự do và formaldehyt được chiết qua việc thủy phân có trong nước chiết từ da ở các điều kiện chuẩn.

2 Sự phù hợp

Khi so sánh với TCVN 7535-2 (ISO 17226-2), hai phương pháp phân tích này phải đưa ra những xu hướng tương tự nhau nhưng không nhất thiết phải có kết quả hoàn toàn giống nhau. Bởi vậy, trong trường hợp có tranh chấp, ưu tiên sử dụng phương pháp trong TCVN 7535-1 (ISO 17226-1) hơn phương pháp trong TCVN 7535-2 (ISO 17226-2).

3 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 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm - Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

TCVN 7117 (ISO 2418), *Da - Phép thử hoá, cơ lý và độ bền màu - Vị trí lấy mẫu*

TCVN 7126 (ISO 4044), *Da - Phép thử hoá học - Chuẩn bị mẫu thử hóa*

TCVN 7535-1:2010

ISO 4684, *Leather – Chemical tests – Determination of volatile matter* (Da – Phép thử hoá học – Xác định chất bay hơi)

4 Nguyên tắc

Quá trình này có tính chọn lọc. Formaldehyt được tách ra và định lượng như một chất dẫn xuất từ các aldehyt và xeton khác bằng phương pháp sắc ký lỏng. Chất được phát hiện là formaldehyt tự do và formaldehyt bị thủy phân trong quá trình chiết để tạo thành formaldehyt tự do.

Mẫu thử được tách rửa bằng dung dịch chất tẩy ở 40 °C. Nước rửa giải được trộn với 2,4-dinitrophenylhydrazin, khi đó aldehyt và xeton sẽ phản ứng để tạo ra các hydrazone tương ứng. Các hydrazone này được tách bằng phương pháp HPLC đảo pha, được phát hiện ở 360 nm và được định lượng.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử có cấp độ phân tích đã biết, trừ khi có qui định khác. Nước phải là loại 3 theo TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987). Tất cả các dung dịch là dung dịch nước.

5.1 Thuốc thử cho dung dịch formaldehyt gốc

5.1.1 Dung dịch formaldehyt, khoảng 37 % (phần khối lượng).

5.1.2 Dung dịch iot, 0,05 mol/l, nghĩa là 12,68 g iot trên lít.

5.1.3 Dung dịch natri hydroxit, 2,0 mol/l.

5.1.4 Dung dịch axit sulfuric, 2,0 mol/l.

5.1.5 Dung dịch natri thiosulfat, 0,1 mol/l.

5.1.6 Dung dịch hồ tinh bột, 1 %, nghĩa là 1 g tinh bột trong 100 ml nước.

5.2 Thuốc thử cho phương pháp HPLC

5.2.1 Dung dịch natri dodecylsulphonat (chất tẩy), 0,1 %, 1 g trong 1 000 ml nước.

5.2.2 Dung dịch dinitrophenylhydrazin (DNPH), bao gồm 0,3 g DNPH (2,4-dinitrophenylhydrazin) hòa tan trong 100 ml axit o-phosphoric đậm đặc (85 % phần khối lượng). (DNPH được kết tinh lại từ 25 % phần khối lượng, axetonitril trong nước).

5.2.3 Axetonitril

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng thiết bị phòng thí nghiệm thông thường, đặc biệt là những thiết bị, dụng cụ sau.

6.1 Bình định mức, dung tích 10 ml, 500 ml, và 1 000 ml.

6.2 Bình Erlenmeyer, dung tích 100 ml và 250 ml.

- 6.3 **Phễu lọc có màng lọc sợi thủy tinh**, GF8 (hoặc **phễu lọc thủy tinh G3**, đường kính từ 70 mm đến 100 mm).
- 6.4 **Thiết bị cách thủy**, kiểm soát nhiệt tính đến $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, được gắn với máy lắc hoặc máy khuấy bình.
- 6.5 **Nhiệt kế**, chia độ đến $0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong khoảng từ $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $50\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 6.6 **Hệ thống HPLC với đầu dò UV**, 360 nm.
- 6.7 **Màng lọc**, polyamit, $0,45\text{ }\mu\text{m}$.
- 6.8 **Cân phân tích**, cân chính xác đến $0,1\text{ mg}$.

7 Cách tiến hành

7.1 Quy trình xác định formaldehyt trong dung dịch gốc

7.1.1 Chuẩn bị dung dịch formaldehyt gốc

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch formaldehyt (5.1.1) cho vào bình định mức 1 000 ml (6.1) có chứa khoảng 100 ml nước và sau đó thêm nước đã khử khoáng đến vạch mức. Dung dịch này là dung dịch formaldehyt gốc.

7.1.2 Xác định

Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch formaldehyt gốc cho vào bình Erlenmeyer 250 ml (6.2) và trộn với 50 ml dung dịch iot (5.1.2). Thêm natri hydroxit (5.1.3) vào cho đến khi hỗn hợp chuyển sang màu vàng. Để hỗn hợp phản ứng trong $15\text{ min} \pm 1\text{ min}$ ở $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ và sau đó vừa khuấy hỗn hợp, vừa thêm 15 ml axit sulfuric (5.1.4).

Sau khi thêm 2 ml dung dịch hồ tinh bột (5.1.6), chuẩn độ lượng iot dư cùng với natri thiosulfat (5.1.5) cho đến khi đổi màu. Tiến hành ba lần xác định riêng rẽ. Chuẩn độ ít nhất hai dung dịch trắng theo cách tương tự.

$$\rho_{FA} = \frac{(V_0 - V_1) \times c_1 \times M_{FA}}{2}$$

trong đó

- ρ_{FA} là nồng độ dung dịch formaldehyt gốc, tính bằng miligam trên 10 ml (mg/10 ml);
- V_0 là thể tích dung dịch thiosulfat dùng để chuẩn độ dung dịch trắng, tính bằng mililit (ml);
- V_1 là thể tích dung dịch thiosulfat dùng để chuẩn độ dung dịch mẫu thử, tính bằng mililit (ml);
- M_{FA} là khối lượng phân tử tương đối của formaldehyt, 30,02 g/mol;
- c_1 là nồng độ của dung dịch thiosulfat, tính bằng mol trên lít (mol/l).

TCVN 7535-1:2010

7.2 Quy trình xác định formaldehyt có trong da bằng phương pháp HPLC

7.2.1 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

Nếu có thể, lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418). Nếu không thể lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418) (ví dụ, da lấy từ sản phẩm đã hoàn thiện như giày, quần áo), thì chi tiết của việc lấy mẫu phải ghi trong báo cáo thử nghiệm. Nghiền da theo TCVN 7126 (ISO 4044).

Nếu kết quả biểu thị dựa trên chất khô, thì thử thêm một mẫu thử của cùng loại da đó theo ISO 4684 sao cho có thể tính toán được hàm lượng ẩm.

7.2.2 Chiết

Cân 2 g \pm 0,1 g da cho vào một lọ thích hợp. Dùng pipet lấy 50 ml dung dịch chất tẩy (5.2.1) cho vào bình Erlenmeyer 100 ml (6.2) và làm nóng dung dịch đến 40 °C. Chuyển lượng da đã được cân trước vào bình, sau đó đậy kín bằng nút thủy tinh (xem phần dưới). Khuấy hỗn hợp trong bình hoặc lắc nhẹ ở 40 °C \pm 0,5 °C trên thiết bị cách thủy (6.4) trong 60 min \pm 2 min. Dung dịch chiết đã làm nóng được lọc chân không ngay qua phễu lọc thủy tinh (6.3) rồi cho vào bình. Làm mát dung dịch lọc trong bình kín xuống nhiệt độ phòng (18 °C đến 26 °C).

Không được thay đổi tỷ lệ da/dung dịch. Việc chiết và phân tích phải được thực hiện trong cùng một ngày.

7.2.3 Phản ứng với DNPH

Dùng pipet lấy 4,0 ml axetonitril (5.2.3), 5,0 ml phần phân ước của nước rửa giải đã lọc (7.2.2) và 0,5 ml dung dịch DNPH (5.2.2) cho vào một bình định mức 10 ml (6.1). Đổ thêm nước đã khử khoáng vào bình định mức đến vạch mức và lắc nhanh bằng tay để trộn đều hỗn hợp. Để yên hỗn hợp ít nhất 30 min, nhưng tối đa không quá 180 min. Sau khi lọc qua màng lọc (6.7), phân tích mẫu theo phương pháp HPLC. Nếu nồng độ của mẫu nằm ngoài khoảng hiệu chuẩn, thì lấy phần phân ước nhỏ hơn.

7.2.4 Điều kiện HPLC (khuyến nghị)

Các điều kiện HPLC chỉ là khuyến nghị. Phương pháp sử dụng phải được kiểm tra bằng cách sử dụng cách xác định tỷ lệ thu hồi (7.2.7) và kết quả quan sát được phải trong phạm vi được liệt kê ở Bảng A.1.

Tốc độ dòng:	1,0 ml/min
Pha động:	axetonitril/nước, 60:40
Cột tách:	cột pha ngược C18 với cột tách sơ bộ (1 cm, RP18)
Bước sóng UV để phát hiện:	360 nm
Thể tích bơm:	20 μ l

CHÚ THÍCH Cột Merck 100, CH 18,2 (tráng phủ dày, 12 % C) là một ví dụ về cột tách phù hợp có thể mua được¹⁾

¹⁾ Cột Merck 100, CH 18,2 là một ví dụ của một sản phẩm phù hợp có thể mua được. Thông tin này đưa ra để tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không phải là chỉ định của ISO.

7.2.5 Hiệu chuẩn HPLC

Dùng pipet lấy 0,5 ml dung dịch formaldehyt gốc thu được theo 7.1.1, với hàm lượng formaldehyt đã biết chính xác, cho vào bình định mức 500 ml (6.1) đã có sẵn khoảng 100 ml nước. Trộn đều và cho thêm nước đến vạch mức, và trộn đều lại. Dung dịch này là dung dịch chuẩn dùng để hiệu chuẩn, nghĩa là; dung dịch chuẩn chứa khoảng 2 µg formaldehyt/ml.

Cho thêm 4 ml axetonitril (5.2.3) vào từng bình trong sáu bình định mức 10 ml (6.1), sau đó để tạo ra một dãy nồng độ, cho thêm vào mỗi bình lượng dung dịch chuẩn tương ứng 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml. Ngay sau khi thêm dung dịch formaldehyt (5.1.1), trộn đều mỗi bình và thêm 0,5 ml dung dịch DNPH (5.2.2). Thêm nước khử khoáng vào các bình đến vạch mức và trộn đều. Sau ít nhất 60 min và không quá 180 min, phân tích mẫu bằng phương pháp HPLC sau khi lọc qua màng lọc (6.7). Thực hiện hiệu chuẩn bằng cách vẽ biểu đồ của diện tích pic dẫn xuất formaldehyt tương ứng với nồng độ tính bằng microgam trên 10 ml.

7.2.6 Tính toán hàm lượng formaldehyt trong mẫu thử da

$$w_F = \frac{\rho_S x F}{m}$$

trong đó

w_F là nồng độ formaldehyt có trong mẫu thử, được làm tròn đến 0,01 mg/kg, tính bằng miligam trên kilogam (mg/kg);

ρ_S là nồng độ formaldehyt có được từ biểu đồ hiệu chuẩn, tính bằng microgam trên 10 ml (µg/10 ml);

F là hệ số pha loãng, tính bằng mililit (ml);

m là khối lượng của da đã cân, tính bằng gam (g).

7.2.7 Pha mẫu – Xác định tỷ lệ thu hồi

Trước tiên đổ 4 ml axetonitril (5.2.3) vào bình định mức 10 ml (6.1) và thêm phần phân ước của 2,5 ml dung dịch lọc thu được như mô tả trong 7.2.2. Sau đó thêm một lượng dung dịch chuẩn formaldehyt đã xác định chính xác để thu được nồng độ gần tương đương với nồng độ xác định được trong mẫu thử.

Xử lý tiếp dung dịch này theo qui trình được mô tả trong 7.2.3 và xác định ρ_{S2} theo qui trình được mô tả trong 7.2.3. Tiến hành xác định và ghi giá trị này trong báo cáo thử nghiệm.

$$R_R = \frac{(\rho_{S2} - 0,5\rho_S) \times 100}{\rho_{FA1}}$$

trong đó

ρ_{S2} là nồng độ formaldehyt có được từ biểu đồ hiệu chuẩn, tính bằng microgam trên 10 ml (µg/10 ml);

ρ_S là nồng độ formaldehyt trong mẫu thử không pha, tính bằng microgam trên 10 ml (µg/10 ml);

ρ_{FA1} là lượng formaldehyt đã pha, tính bằng microgam trên 10 ml (µg/10 ml);

TCVN 7535-1:2010

R_R là tỷ lệ thu hồi, được làm tròn đến 0,1 %, tính bằng phần trăm.

3 Biểu thị kết quả

Biểu thị nồng độ formaldehyt chính xác đến 0,1 mg/kg dựa trên khối lượng của mẫu da đem thử.

Nếu kết quả được biểu thị dựa trên cơ sở chất khô, nhân kết quả trên với hệ số $100/(100 - w)$, trong đó w là hàm lượng ẩm tính bằng phần trăm (%) xác định theo ISO 4684. Nếu kết quả được biểu thị dựa trên cơ sở chất khô, thì ghi rõ trong báo cáo thử nghiệm.

3 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các nội dung sau:

- a) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- b) loại, nguồn gốc và mô tả mẫu da được phân tích và phương pháp lấy mẫu đã sử dụng;
- c) qui trình phân tích đã sử dụng;
- d) kết quả phân tích hàm lượng formaldehyt;
- e) bất kỳ sai lệch nào so với qui trình phân tích, đặc biệt là thực hiện các bước thêm vào;
- f) ngày thử nghiệm;
- g) nếu kết quả được xác định dựa trên cơ sở chất khô thì phải ghi trong báo cáo thử nghiệm.

Phụ lục A
(tham khảo)

Độ chụm: độ tin cậy của phương pháp sắc ký HPLC

Số liệu sau đây thu được từ thử nghiệm liên phòng với 10 phòng thử nghiệm các mẫu thử da có lượng formaldehyt chưa biết.

Bảng A.1 – Số liệu độ tin cậy của phương pháp sắc ký HPLC

Mẫu thử da	Hàm lượng formaldehyt trung bình mg/kg	Độ lặp lại <i>r</i> mg/kg	Độ tái lập <i>R</i> mg/kg	Tỷ lệ thu hồi %
A	7,65	1,27	3,13	94
B	17,69	3,82	7,97	96
C	28,69	5,40	11,42	91
D	102,16	20,82	64,33	94