

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.171 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 03/10/2017 Trang: 1/4
---	---------------------	---

ĐỊNH LƯỢNG MIT/MCIT TRONG KHĂN ƯỚT & MỸ PHẨM BẰNG SẮC KÝ LỎNG (HPLC/PDA)

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Đặng Lê Hoàng Yến	Trịnh Thị Minh Nguyệt	Trần Thái Vũ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1	F.3	Sửa đổi chương trình gradient pha động	30/08/2017

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.171 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 03/10/2017 Trang: 2/4
---	---------------------	---

A. GIỚI THIỆU

1. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng methylchloroisothiazolinone (CIT) và methylisothiazolinone (MIT) là những chất bảo quản được sử dụng trong khăn ướt và mỹ phẩm. Giới hạn phát hiện của phương pháp:

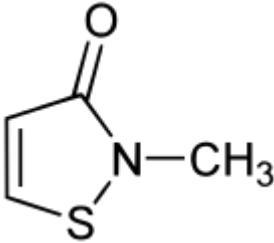
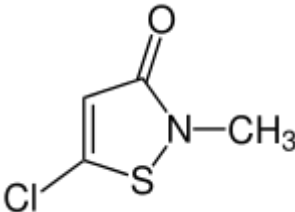
Nền mẫu	LOD, ppm		LOQ, ppm	
	MIT	CIT	MIT	CIT
Khăn ướt	0.3	0.3	1	1
Mỹ phẩm	1	1	3	3

2. Tài liệu tham khảo

 Ref: Pol. J. Environ. Stud. Vol. 22, No. 6 (2013), 1609 – 1625

 UMA 5109

3. Công thức cấu tạo

	CTPT	Cấu tạo	M (g/mol)
MIT	C ₄ H ₅ NOS		115.1
CIT	C ₄ H ₄ ClNOS		149.59

4. Nguyên tắc

- Mẫu được chiết trong nước, sau đó lọc và phân tích trên cột sắc kí pha đảo với đầu dò UV ở bước sóng 272nm

B. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi cần thiết.

Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

C. THIẾT BỊ, DỤNG CỤ

1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 0,1 mg và 1 mg
- Máy lắc Vortex, máy ly tâm
- Ống ly tâm 50ml, 15ml
- Pipet vạch
- Dụng cụ thủy tinh các loại
- Màng lọc 0.45 μ m
- Vial 1.5ml
- Micropipet 1ml, 200 μ L

2. Hệ thống máy HPLC/DAD

Hệ thống sắc ký lỏng HPLC – PDA/UV:

- ✓ MS Pump Surveyor
- ✓ AS Surveyor
- ✓ PDA Detector Surveyor

Cột sắc ký sắc ký lỏng pha đảo C18 150mm x 4.6mm, kích thước hạt 5 μ m (hoặc tương đương).

D. HÓA CHẤT

- Nước khử ion
- Methanol – HPLC
- TFA, Merck

E. CHẤT CHUẨN

2 – Methyl – 4 – isothiazolin – 3 – on (MIT): Dr.Ehrentofer

5 – Chloro – 2 – methyl – 3 – isothiazolone (MCIT): TRC

1. Dung dịch chuẩn gốc:

- Cân 10.0mg MIT vào bình mức 10 ml. Định mức lên đến vạch bằng Methanol hoặc nước. Ta được dung dịch chuẩn 1000mg/L
- Cân 10.0mg CIT vào bình mức 10 ml. Định mức lên đến vạch bằng Methanol hoặc nước. Ta được dung dịch chuẩn 1000mg/L
- Công thức tổng quát để tính nồng độ của chuẩn gốc như sau:

$$C(\text{ppm}) = \frac{m * \% \text{ pure}}{V * 100} * 1000$$

Trong đó:

- m: khối lượng chuẩn (mg)
- V: Thể tích định mức (mL)
- % pure: độ tinh khiết của chuẩn

(Chuẩn gốc bảo quản ở 4-8°C, sử dụng 1 năm)

2. Dung dịch chuẩn trung gian 10mg/L

Từ dung dịch chuẩn gốc pha hỗn hợp chuẩn trung gian 10mg/L trong nước. (bảo quản ở 4-8°C, sử dụng 6 tháng)

3. Dung dịch chuẩn làm việc

Từ chuẩn trung gian 10mg/L pha thành các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 0.05ppm – 10ppm trong nước. (bảo quản ở 4-8°C, sử dụng 1 tuần)

STT	Nồng độ chuẩn sử dụng, ppm	V chuẩn sử dụng, mL	V nước thêm vào, mL	Nồng độ chuẩn thu được, ppm
1	10	1	0	10
2	10	0.5	0.5	5
3	10	0.2	0.8	2
4	10	0.1	0.9	1
5	10	0.05	0.95	0.5
6	2	0.1	0.9	0.2
7	1	0.1	0.9	0.1

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.171 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 03/10/2017 Trang: 5/4
---	---------------------	---

8	0.5	0.1	0.9	0.05
---	-----	-----	-----	------

F. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu được bảo quản nơi khô, thoáng.

2. Xử lý mẫu

a. Đối với mẫu khăn ướt

- Cân khoảng 5 ± 0.5 g mẫu (thường 1 miếng khăn ướt) vào erlen 150mL
- Thêm 50ml nước, dùng đũa thủy tinh, trộn đều trong 15 phút
- Nếu dung dịch trong lọc qua màng lọc 0.45 μ m trước khi phân tích HPLC.
- Nếu dung dịch đục, lọc qua giấy lọc rồi sau đó lọc qua màng lọc 0.45 μ m trước khi phân tích HPLC.

b. Đối với mẫu mỹ phẩm

- Cân khoảng 1 ± 0.1 g mẫu cho vào bình định mức 10mL, nếu mẫu ở dạng gel trong định mức tới vạch bằng nước và lọc qua màng lọc 0.45 μ m. Còn mẫu ở dạng đục thì thêm nước vào gần tới vạch mức thêm 0.10mL carezz I và 0.10mL carezz II, định mức tới vạch bằng nước, vortex , ly tâm và lọc qua màng lọc 0.45 trước khi phân tích trên HPLC.

3. Phân tích trên HPLC-UV

- Cột sắc ký: cột C₁₈ 150mm x 4.6mm, kích thước hạt 5 μ m. (hoặc tương đương)
- Thể tích tiêm: 20 μ l
- Pha động: H₂O (0.1% TFA) : MeOH
- Tốc độ : 0.8mL/phút
- λ : 275nm
- Chương trình gradient

Time	%MeOH	%H ₂ O (0.1% TFA)
0	5	95
5.5	20	80
7	30	70
8	50	50
13	50	50

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.171 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 03/10/2017 Trang: 6/4
---	---------------------	---

13.5	70	30
17	70	30
17.5	5	95
19	5	95

Lưu ý: Với các cột sắc ký lỏng C_{18} phân cực khác nhau (chiều dài, đường kính cột, kích cỡ hạt...), tỉ lệ thành phần pha động hay tốc độ dòng có thể thay đổi.

4. Trình tự tiêm mẫu

Sau khi hệ thống cân bằng (khoảng 30 phút), các mẫu sẽ được phân tích theo trình tự sau:

- Các dung dịch chuẩn có nồng độ từ thấp đến cao
- Mẫu cần kiểm nghiệm.
- Mẫu thêm chuẩn
- Chuẩn check

Chú ý: Khi phân tích mẫu hàng loạt, tiêm xen kẽ một điểm chuẩn sau khi phân tích chuỗi 5 mẫu và kết thúc là một điểm chuẩn.

G. YÊU CẦU VỀ ĐỘ TIN CẬY CỦA PHÉP PHÂN TÍCH

- Đường chuẩn phải có độ tuyến tính tốt (ít nhất là 05 điểm chuẩn), hệ số tương quan hồi qui tuyến tính (R^2) phải lớn hơn hoặc bằng 0.995.
- Độ lệch của các dung dịch chuẩn tiêm xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá $\pm 10\%$ giá trị thật.
- Mẫu thêm chuẩn được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu. Hiệu suất thu hồi của mẫu thêm chuẩn phải nằm trong khoảng 80-110 %.
- Mẫu lặp lại được thực hiện cho một lô mẫu (≥ 5 mẫu). Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá $\pm 10\%$.

H. TÍNH KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích thu được với nồng độ tương ứng. Kết quả chất cần phân tích trong mẫu được tính toán thông qua diện tích tương ứng so với đường chuẩn, theo công thức sau:

$$C = \frac{C_0 \times V \times f}{m}$$

Trong đó:

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, ppm
- C_0 : nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính theo đường chuẩn, mg/L

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.171 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 03/10/2017 Trang: 7/4
---	----------------------------	---

- V: Thể tích định mức, mL
- f: hệ số pha loãng (nếu có)
- m: khối lượng cân, g

I. BÁO CÁO KẾT QUẢ

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong phiếu phân tích, bao gồm:

- Mã số mẫu, ngày phân tích, thiết bị phân tích...
- Thể tích mẫu thử
- Thể tích định mức và các hệ số pha loãng (nếu có)
- Phương trình đường chuẩn
- Kết quả của mẫu trắng, mẫu thử, mẫu thêm chuẩn
- Những ghi nhận hay thay đổi khác (nếu có)