



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۱۰۸۴۷-۳

چاپ اول

۱۳۹۲

INSO

10847-3

1st. Edition

2013

هوای درون ساختمان - قسمت ۳: اندازه‌گیری
فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در هوای
ساختمان و هوای محفظه آزمون - روش نمونه-
برداری فعال

**Indoor air - Part 3: Determination of
formaldehyde and other carbonyl
compounds in indoor air and test chamber
air - Active sampling method**

ICS:13.040.20

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ جهت اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادات در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذی صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، تعیین عبار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2 - International Electrotechnical Commission

3- International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

« هوای درون ساختمان - قسمت ۳: اندازه‌گیری فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در هوای

ساختمان و هوای محفظه آزمون - روش نمونه‌برداری فعال »

رئیس:

بابایی، علی‌اکبر

(دکتری مهندسی بهداشت محیط)

سمت و / یا نمایندگی

هیات علمی دانشگاه جندی شاپور اهواز

دبیر:

گل محمدی قانع، حامد

(فوق لیسانس شیمی)

هیات علمی جهاد دانشگاهی خوزستان

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

آتشی، مژگان

(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس شرکت زرگستر روبینا

جنتی، زهرا

(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس اداره کل استاندارد استان
خوزستان

چراغی، حسین

(فوق لیسانس مهندسی مواد و متالورژی)

کارشناس اداره کل استاندارد استان
خوزستان

حاتمی، امیر

(فوق لیسانس شیمی)

مدیرعامل شرکت پرشیا پژوهش شریف

خدابخشی‌نژاد، فرزانه

(فوق لیسانس مهندسی محیط زیست)

کارشناس گروه ملی صنعتی فولاد ایران

خوشنام، فرزانه

(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس اداره کل استاندارد استان
خوزستان

دایی، مینا

(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس شرکت پرشیا پژوهش شریف

هیات علمی جهاد دانشگاهی خوزستان

زمان، بهجت
(فوق لیسانس مهندسی شیمی)

کارشناس پتروشیمی تندگویان

شهبازی، هومن
(لیسانس شیمی)

کارشناس آلودگی هوا معاونت بهداشت
دانشگاه

صفدری، فرهاد
(فوق لیسانس مهندسی بهداشت محیط)

کارشناس آزمایشگاه شرکت بانیان پی

علیمحمدی، علیرضا
(فوق لیسانس خاک شناسی)

کارشناس شرکت زرگستر روبینا

فتاحی‌نیا، مهناز
(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس شرکت زرگستر روبینا

قمی، متینه
(فوق لیسانس شیمی)

کارشناس

مکوندی، علی
(لیسانس شیمی)

کارشناس شرکت زرگستر روبینا

نقدی، تینا
(فوق لیسانس شیمی)

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ب	آشنایی با سازمان ملی استاندارد
ج	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ز	مقدمه
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۲	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصول آزمون
۲	۴ محدودیت‌ها و مزاحمت‌ها
۴	۵ تمهیدات ایمنی
۵	۶ وسایل
۸	۷ مواد و/ یا واکنشگرها
۱۰	۸ آماده‌سازی واکنشگرها و کارتریج‌ها
۱۳	۹ روش انجام آزمون
۲۵	۱۰ محاسبات
۲۷	۱۱ معیارهای شخسه‌های عملکردی و تضمین کیفیت
۲۹	۱۲ دقت و عدم قطعیت
۲۹	۱۳ گزارش آزمون
۳۰	پیوست الف (اطلاعاتی) دقت و عدم قطعیت
۳۲	پیوست ب (اطلاعاتی) نقطه ذوب مشتقات DNPB- کربونیل
۳۳	پیوست پ (اطلاعاتی) کتاب‌نامه

پیش گفتار

استاندارد "هوای درون ساختمان- قسمت ۳: اندازه‌گیری فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در هوای ساختمان و هوای محفظه آزمون- روش نمونه‌برداری فعال" که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط شرکت زرگستر روینا تهیه و تدوین شده و در سومین اجلاس کمیته ملی استاندارد محیط زیست مورخ ۱۳۹۲/۷/۱۶ مورد تصویب قرار گرفته است اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و ماخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ISO 16000-3: 2011, Indoor air -Part 3: Determination of formaldehyde and other carbonyl compounds in indoor air and test chamber air - Active sampling method

این استاندارد برای توصیف هوای درون ساختمان با پیروی از راهبرد نمونه‌برداری مشخص شده در استاندارد ISO 16000-2 به کار می‌رود. این استاندارد برای فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر قابل اجرا می‌باشد و برای ۱۴ آلدهید و کتون مورد آزمون قرار گرفته است. فرمالدهید ساده‌ترین ترکیب کربونیلی با یک اتم کربن، یک اتم اکسیژن و دو اتم هیدروژن است. در حالت تک مولکولی یک گاز بی‌رنگ، سوزش‌آور و واکنش‌پذیر است و از آن در تولید رزین‌های اوره-فرمالدهید، چسب‌ها و اسفنج‌های عایق استفاده می‌شود. منابع اصلی فرمالدهید در هوای ساختمان، انتشار از نئوپان و عایق دیوار هستند.

فرمالدهید به وسیله عبور هوا از میان یک محیط واکنش‌پذیر جمع‌آوری و به یک مشتق با فشار بخار کمتر تبدیل می‌شود که این ترکیب به‌طور موثری توسط نمونه‌بردار بازداري و به آسانی آنالیز می‌شود.

در این قسمت از استاندارد ISO 16000، فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر به وسیله واکنش با ۲،۴-دی-نیترو فنیل هیدرازین پوشش داده شده بر روی یک جاذب اندازه‌گیری می‌شوند که آن‌ها را به هیدرازون‌های مشابه تبدیل می‌کند که می‌توانند بازیابی شده و با حساسیت، دقت و درستی بالا اندازه‌گیری شوند. همچنین ترکیبات کربونیلی دیگر که ممکن است از حلال‌ها، چسب‌ها، لوازم آرایشی و منابع دیگر به داخل هوا منتشر شوند، می‌توانند با استفاده از این استاندارد اندازه‌گیری شوند.

شیوه نمونه‌برداری بر اساس روش US EPA TO-11A می‌باشد.

فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر پتاسیل سمیت بالایی دارند.

همچنین استانداردهای ISO 16017 و ISO 12219 به اندازه‌گیری ترکیبات آلی فرار (VOC)^۱ می‌پردازند.

1- Volatile organic compound

هوای درون ساختمان - قسمت ۳: اندازه‌گیری فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در هوای ساختمان و هوای محفظه آزمون - روش نمونه‌برداری فعال

هشدار - توصیه می‌شود اشخاصی که از این استاندارد استفاده می‌کنند با روش‌های آزمایشگاهی معمول آشنا باشند. در این استاندارد به تمام موارد ایمنی مرتبط با کاربرد آن اشاره نشده است. در صورت وجود چنین مواردی مسئولیت برقراری ایمنی، سلامتی و تعیین حدود قوانین کاربری قبل از استفاده به عهده کاربر می‌باشد.

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، اندازه‌گیری فرمالدهید (HCHO) و ترکیبات کربونیلی دیگر (آلدهیدها و کتون‌ها) در هوا می‌باشد.

این استاندارد ویژه فرمالدهید است، اما با اصلاح، می‌تواند برای تشخیص و اندازه‌گیری حداقل ۱۲ ترکیب آروماتیک دیگر به‌علاوه ترکیبات کربونیل آلیفاتیک اشباع و غیر اشباع به‌کار رود. این استاندارد برای اندازه‌گیری فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در محدوده غلظت تقریبی $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ تا $1 \text{mg}/\text{m}^3$ کاربرد دارد. روش نمونه‌برداری یک متوسط وزنی - زمان (TWA)^۱ از نمونه را ارائه می‌دهد. این روش می‌تواند برای دوره زمانی طولانی (۱ ساعت تا ۲۴ ساعت) یا دوره زمانی کوتاه (۵ دقیقه تا ۶۰ دقیقه) نمونه‌برداری فرمالدهید از هوا به‌کار رود.

این استاندارد یک روش کار نمونه‌برداری و آنالیز را برای فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر ارائه می‌دهد که شامل جمع‌آوری از هوا بر روی یک کارت‌تریچ جاذب سطحی پوشش داده شده با ۴،۲-دی نیترو فنیل هیدرازین (DNPH)^۲ و به دنبال آن، آنالیز هیدرازون‌های تشکیل شده به‌وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)^۳ با آشکارسازی جذب فرابنفش (UV)^۴ است.

این استاندارد برای ترکیبات کربونیلی با زنجیره‌های طولانی یا غیر اشباع کاربرد ندارد. این استاندارد برای تعیین ترکیبات زیر کاربرد دارد:^۵

استالدهید (اتانال)	ایزووالرالدهید (۳-متیل بوتانال)
استون (۲-پروپانول)	پروپیون آلدهید (پروپانال)
بنزآلدهید	متا تولوآلدهید (۳-متیل بنزآلدهید)
بوتیرآلدهید (بوتانال)	اورتو تولوآلدهید (۲-متیل بنزآلدهید)
کاپرون آلدهید (هگزانال)	پارا تولوآلدهید (۴-متیل بنزآلدهید)
۲، ۵-دی‌متیل بنزآلدهید	والر آلدهید (پنتانال)

1- Time-weighted average
2- 2,4-dinitrophenylhydrazine
3- High performance liquid chromatography
4-Ultra violet

۵- در این استاندارد، نام‌های قدیمی به جای روش نامگذاری آیوپاک استفاده می‌شود. نام‌های هم‌ارز آیوپاک برخی از ترکیبات در پرانتز آورده شده است.

فرمالدهید (متانال)

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است.

استفاده از مرجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۲ استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۰۲۵: سال ۱۳۸۶، الزامات عمومی برای احراز صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون

۳ اصول آزمون

هوا از میان یک کارتریج شامل سیلیکاژل پوشش داده شده با واکنشگر DNPH عبور داده می‌شود. یک گروه کربونیل با DNPH در حضور یک اسید به منظور تشکیل مشتقات پایدار مطابق با واکنش نشان داده شده در شکل ۱ به طور ویژه واکنش داده می‌شود. مشتقات DNPH به جای آلدهیدها و کتون‌های اولیه با استفاده از HPLC با آشکارسازی UV یا آرایه دیودی^۱ آنالیز می‌شوند. تشخیص ترکیبات کربونیلی دیگر که می‌توانند با استفاده از این روش تعیین شوند به صورت خلاصه در بند ۹-۳-۵ آورده شده است. این استاندارد، کاربر را برای تهیه کارتریج‌های نمونه‌برداری از کارتریج‌های سیلیکاژل تجاری برای کروماتوگرافی با کاربرد DNPH اسیدی برای هر کارتریج راهنمایی می‌کند. از سوی دیگر کارتریج‌های سیلیکاژل پوشش داده شده با DNPH در دسترس هستند و پیشنهاد می‌شوند، زیرا معمولاً هنگام ساخت یکنواخت‌تر و دارای سطوح شاهد کمتری هستند. به هر حال، در صورتی که از کارتریج‌های تجاری استفاده می‌شود، باید مشخص شود که با معیارهای عملکردی این استاندارد مطابقت دارند. مزیت دیگر کارتریج‌های تجاری این است که ذرات سیلیکاژل با اندازه بزرگ‌تر در دسترس هستند که منجر به افت فشار کمتر در طول کارتریج می‌شوند. این کارتریج‌های با افت فشار کمتر ممکن است برای نمونه‌برداری هوا با استفاده از پمپ‌های نمونه‌برداری اختصاصی با منبع تغذیه باطری مناسب‌تر باشند.

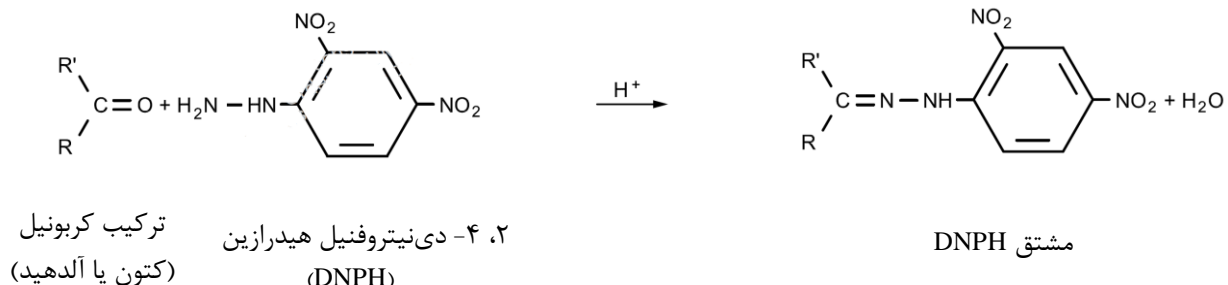
۴ محدودیت‌ها و مزاحمت‌ها

۱-۴ کلیات

نرخ جریان نمونه‌برداری تعیین شده در این استاندارد برای نرخ‌های نمونه‌برداری حداکثر تا ۱/۵ l/min اعتبارسنجی شده است. این محدودیت نرخ جریان اساساً به دلیل افت فشار بالا (فشارهای بیشتر از ۸ kPa)

1-Diode array

در نرخ‌های 1/0 l/min) در طول کارتریج‌های سیلیکاژل تهیه شده به‌وسیله کاربر با اندازه ذرات ۵۵ μm تا ۱۰۵ μm است. این کارتریج‌ها معمولاً با پمپ‌های با منبع تغذیه باطری مورد استفاده در تجهیزات نمونه-برداری اختصاصی (برای مثال پمپ‌های مورد استفاده توسط کارشناسان بهداشت صنعتی) سازگار نیستند.



راهنما:

R و R'، H، گروه آلکیل، گروه آروماتیک

شکل ۱- واکنش ترکیبات کربونیلی برای تشکیل ۲، ۴-دی‌نیترو فنیل هیدرازون‌ها

روش کار نمونه‌برداری جاذب جامد برای نمونه‌برداری و آنالیز فرمالدهید معین شده است. مزاحمت‌ها در این روش به دلیل برخی ایزومرهای آلدهیدها و کتون‌هایی ایجاد می‌شود که ممکن است هنگام آنالیز کتون‌ها و آلدهیدهای دیگر به‌وسیله سیستم HPLC تفکیک نشده باشند. هر ترکیب آلی که مانند DNPH مشتق شده از فرمالدهید دارای زمان پایداری یکسان و جذب عمده در طول موج ۳۶۰ nm باشد، مزاحم است. این گونه مزاحمت‌ها اغلب می‌توانند به‌وسیله تغییر شرایط جداسازی از بین بروند (برای مثال با استفاده از ستون‌های HPLC جایگزین یا تغییر ترکیب فاز متحرک)

آلودگی فرمالدهید ناشی از واکنشگر DNPH، مشکلی است که اکثر اوقات وجود دارد. DNPH باید به‌وسیله چندین بار تبلور مجدد در استونیتریل (ACN)^۱ مناسب برای UV تصفیه شود. تبلور مجدد در دمای ۴۰ °C تا ۶۰ °C به‌وسیله تبخیر تدریجی حلال انجام می‌شود تا این‌که حداکثر اندازه بلور به‌دست آید. درجه ناخالصی ترکیبات کربونیلی روی DNPH، قبل از استفاده در HPLC تعیین شده است و بهتر است در هر کارتریج کمتر از ۰٫۱۵ μg باشد.

توصیه می‌شود از قرار دادن کارتریج‌های نمونه‌برداری پوشش داده شده با DNPH در معرض مستقیم نور خورشید جلوگیری شود زیرا ممکن است محصولات جانبی تولید شود.

ممکن است آکرولئین و کروتون آلدهید به درستی به‌وسیله این روش تعیین نشوند. نتایج نادرست برای این ترکیبات ممکن است ناشی از تشکیل پیک‌های مشتقی چندتایی و بی‌ثباتی نسبت پیک‌ها باشد.

نیتروزن دی‌اکسید با DNPH واکنش می‌دهد. از آنجایی که بسته به ستون و پارامترهای HPLC، زمان بازداری مشتق DNPH مشابه زمان بازداری مشتق فرمالدهید DNPH باشد، غلظت‌های بالای NO₂ (برای مثال ناشی از اجاق‌گاز آشپزی) ممکن است منجر به مشکلاتی شود.

1- Acetonitrile

۲-۴ مزاحمت ازون

در صورت تردید از وجود سطوح بالای ازون به صورت غیرعادی در محیطی که نمونه برداری انجام می شود (برای مثال دستگاه کپی اداری) توصیه می شود با توجه ویژه عمل کنید. مشخص شده است که ازون از طریق واکنش با هر دو DNPH و مشتقات آن (هیدرازون ها) در کارتریج باعث مزاحمت منفی می شود. مقدار مزاحمت به تغییرات موقتی ازون و ترکیبات کربونیل و مدت نمونه برداری بستگی دارد. مزاحمت منفی قابل توجه از ازون، حتی در غلظت های فرمالدهید و ازون در هوای محیط تمیز (غلظت ها به ترتیب $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ و $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$) مشاهده می شود. وجود ازون در نمونه به وسیله پیدایش ترکیبات جدید با زمان های بازداری کوتاه تر از هیدرازون فرمالدهید، به سهولت بر روی آنالیز اثر می گذارد. شکل ۲ کروماتوگرام های نمونه های فرمالدهید افزوده شده به جریان هوا با ازون و بدون ازون را نشان می دهد.

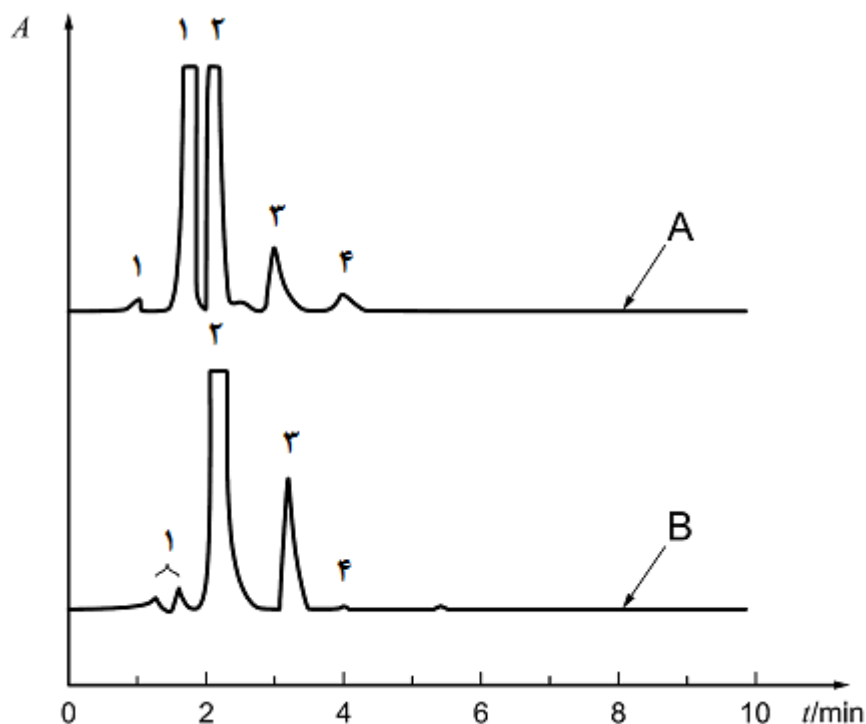
راه حل متداول برای مزاحمت ناشی از ازون، زدودن ازون قبل از رسیدن هوای نمونه برداری شده به کارتریج است که می تواند به وسیله استفاده از یک ازون زدا^۱ یا اسکرابر^۲ که قبل از کارتریج قرار می گیرد، انجام شود. هر دو کارتریج ازون زدا یا اسکرابر به صورت تجاری در دسترس می باشند. یک ازون زدا را می توانید از یک لوله مسی ۱ m با قطر خارجی ۰٫۶۴ cm و قطر داخلی ۰٫۴۶ cm بسازید که با یک محلول اشباع پتاسیم یدید در آب پر شده است. سپس اجازه دهید چند دقیقه ساکن بماند (برای مثال ۵ دقیقه). آن را تخلیه کنید و با جریان هوای تمیز یا نیتروژن حدود یک ساعت خشک کنید. ظرفیت ازون زدا همان طور که مشخص شده است حدود $200 \mu\text{g}/\text{m}^3\text{h}$ می باشد. آلدئیدهای مورد آزمون (فرمالدهید، استالدهید، پروپیون آلدئید، بنزالدهید و پارا تولوآلدئید) به صورت دینامیکی به داخل یک جریان هوای نمونه محیطی افزوده می شوند و از داخل ازون زدا که عملاً در آن اتلافی رخ نمی دهد، عبور می کنند. اسکرابر تجاری از یک کارتریج پر شده با 300 mg تا 500 mg پتاسیم یدید گرانولی که در زدودن ازون موثر است، ساخته می شود.

۵ تمهیدات ایمنی

۱-۴،۲- دی نیترو فنیل هیدرازین در حالت خشک یک ماده منفجره است و باید با توجه خیلی زیاد جابه جا شود. همچنین این ماده سمی است (در موش صحرایی $\text{LD}_{50} = 654 \text{ mg}/\text{Kg}$) و در تعدادی از آزمون ها مشخص شده که باعث جهش ژنی می شود و محرک چشم و پوست است.

۲-۵ پرکلریک اسید در غلظت های کمتر از ۶۸٪ کسر جرمی و در دمای اتاق پایدار و غیراکسنده است. اما در دماهای بالاتر از 160°C به آسانی آب از دست داده و می تواند در تماس با الکل ها، چوب، سلولز و مواد قابل اکسایش دیگر موجب انفجار شود. توصیه می شود در یک مکان خنک و خشک نگهداری شود و فقط در زیر هود و با احتیاط مورد استفاده قرار گیرد.

1-Ozone denuder
2-Scrubber



راهنما:

۱	مجهول	A	جذب نسبی
۲	DNPH	t	زمان
۳	فرمالدهید	A	با ازون
۴	استالدهید	B	بدون ازون

شکل ۲- نمونه‌های کارتریج فرمالدهید در جریان هوا با ازون و بدون ازون

۶ وسایل

وسایل معمول آزمایشگاهی به همراه وسایل زیر مورد استفاده قرار گیرد.

۱-۶ نمونه‌برداری

۱-۱-۶ کارتریج نمونه‌برداری، پر شده با سیلیکاژل و پوشش داده شده با DNPH مطابق بند ۸ یا همان-طوری که به صورت تجاری در دسترس است.

کارتریج باید شامل حداقل مقدار ۳۵۰ mg سیلیکاژل با یک حداقل DNPH بارگذاری شده به اندازه ۰٫۲۹٪ کسر جرمی باشد. نسبت قطر بستر سیلیکاژل به طول بستر نباید از ۱:۱ بیشتر شود. ظرفیت کارتریج برای فرمالدهید در یک نرخ نمونه‌برداری ۱/۵ l/min باید ۷۵ µg و بازده جمع‌آوری حداقل ۹۵٪ باشد. کارتریج-های نمونه‌برداری با سطوح شاهد خیلی کم و عملکرد بالا به صورت تجاری در دسترس می‌باشند.

یادآوری - در کارتریج نمونه ساخته شده توسط کاربر یک افت فشار حدود ۱۹ kPa در نرخ نمونه برداری ۱/۵ l/min مشاهده می شود. کارتریج های پوشش دار تجاری، افت فشار کمتری را ایجاد می کنند. در نتیجه امکان استفاده از پمپ های نمونه برداری اختصاصی با منبع تغذیه باتری را می دهند.

۲-۱-۶ **پمپ نمونه برداری هوا**، قادر به نمونه برداری با دقت و درستی در یک نرخ جریان ۱/۱ l/min تا ۱/۵ l/min

۳-۱-۶ **کنترل کننده جریان**، وسیله های اندازه گیری جریان جرمی و کنترل کننده های جریان جرمی یا دستگاه مناسب دیگر برای اندازه گیری و تنظیم نرخ های جریان هوا از ۰/۵۰ l/min تا ۱/۲۰ l/min از درون کارتریج نمونه

۴-۱-۶ **کالیبره کننده جریان**، از قبیل جریان سنج چرخان، جریان سنج حباب صابونی یا جریان سنج آزمون تر

۲-۶ **آماده سازی نمونه**

۱-۲-۶ **محفظه های کارتریج**، برای مثال لوله های کشت میکروب از جنس شیشه بوروسیلیکات (۱۲۵ mm × ۲۰ mm) با درپوش های پیچی پلی پروپیلن یا محفظه مناسب دیگر برای انتقال کارتریج های پوشش دار

۲-۲-۶ **دست کش های پلی اتیلنی**، برای جابه جایی کارتریج های سیلیکاژل

۳-۲-۶ **محفظه های انتقال**، محفظه های فلزی درپوش دار مناسب^۱ (برای مثال با حجم ۴ l)، با پوشش فوم پلی اتیلن یا پرکننده مناسب دیگر، به منظور نگهداری و مقاومت در برابر ضربه محفظه کارتریج های درزبندی شده

یادآوری - یک کیسه پلاستیکی آستردار شده با ورقه نازک که به وسیله گرما قابل درزبندی است از نوعی که حاوی تعدادی از کارتریج های تجاری پوشش داده شده با DNPH است، می تواند در صورت لزوم بعد از نمونه برداری برای نگهداری کارتریج پوشش داده شده با DNPH استفاده شود.

۴-۲-۶ **پایه برای کارتریج های پوشش دار**، یک قفسه سرنگ ساخته شده از یک صفحه آلومینیومی (۵۳ cm × ۳۶ cm × ۰/۱۶ cm) با پایه های قابل تنظیم در چهار گوشه. یک شبکه (۹ × ۵) با حفره های مدور با قطر اندکی بزرگ تر از قطر سرنگ های ۱۰ ml، سوراخ شده به صورت قرینه نسبت به مرکز صفحه. قادر به انجام فرآیند ناپیوسته برای ۴۵ کارتریج به منظور تمیزکاری، پوشش دهی و/ یا شویش نمونه (شکل ۳ را ببینید).

۵-۲-۶ **چندراهه خشک کننده کارتریج**، شامل یک پایه با متصل کننده های گازی و با متصل کننده های چندراهه سرنگی استاندارد (شکل ۳ را ببینید).

۱- نوع Friction-top توصیه می شود.

یادآوری- در صورتی که کاربر بخواهد کارتریج‌های پوشش داده شده با DNPH را خودش بسازد به وسایل مشخص شده در بندهای ۴-۲-۶ و ۵-۲-۶ نیاز است.

۳-۶ آنالیز نمونه

۱-۳-۶ سیستم HPLC، شامل موارد زیر می‌باشد:

۱-۱-۳-۶ یک مخزن فاز متحرک مجهز به یک وسیله خروج گاز (برای مثال غشای تحت فشار کاهش یافته)

۲-۱-۳-۶ یک پمپ فشار بالا

۳-۱-۳-۶ یک شیر تزریق (نمونه‌بردار خودکار با لوپ^۱ دارای حجم ۲۵ μl یا حجم مناسب دیگر)

۴-۱-۳-۶ یک ستون فاز معکوس C₁₈^۲(RP) (برای مثال قطر داخلی ۴٫۶ mm و طول ۲۵ cm با اندازه ذرات ۵ μm)

۵-۱-۳-۶ یک آشکارساز UV یا آشکارساز آرایه دیودی در طول موج ۳۶۰ nm

۶-۱-۳-۶ یک سیستم داده یا ثبات نوار کاغذی

مشتق DNPH- فرمالدهید با استفاده از HPLC فاز معکوس ایزوکراتیک^۳ مجهز به یک آشکارساز جذب UV (فرابنفش) در طول موج ۳۶۰ nm تعیین می‌شود. به همین صورت یک کارتریج شاهد واجذب و آنالیز می‌شود. فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر در نمونه با مقایسه زمان بازداری و ارتفاع پیک یا سطح پیک آن‌ها با محلول‌های استاندارد شناسایی و تعیین می‌شوند.

یادآوری ۱- بیشتر سیستم‌های تجزیه HPLC تجاری برای این کاربرد مناسب هستند.

یادآوری ۲- برای اطمینان از ثابت بودن دمای عملکرد ستون و بهبود تجدیدپذیری می‌توان از یک گرم‌خانه ستون استفاده کرد.

۲-۳-۶ سرنگ‌ها و پی‌پت‌ها

۱-۲-۳-۶ سرنگ‌های تزریق HPLC، با ظرفیت حداقل ۴ برابر حجم لوپ (بند ۳-۶-۱ را ببینید)

۲-۲-۳-۶ سرنگ‌ها، با حجم ۱۰ ml، مورد استفاده برای تهیه کارتریج‌های پوشش داده شده با DNPH (سرنگ‌های پلی اتیلنی مناسب است)

۳-۲-۳-۶ اتصالات و درپوش‌های سرنگ، برای اتصال کارتریج‌ها به سیستم نمونه‌بردار و پوشش کارتریج-های ساخته شده

1-Loop
2- Reverse phase
3- Isocratic

۴-۲-۳-۶ پی‌پت‌ها، جابه‌جایی مثبت با نوک قابل تعویض با ظرفیت ml ۰ تا ml ۱۰ مطابق استاندارد ISO 8655-2

۷ مواد و/یا واکنشگرها

در طول آنالیز فقط از واکنشگرهای با خلوص تجزیه‌ای مشخص و فقط از آب مقطر یا آب با خلوص معادل استفاده کنید.

۱-۷ ۲،۴-دی‌نیترو فنیل هیدرازین، قبل از استفاده با استونیتریل مناسب برای UV حداقل دو بار تبلور مجدد شود.

۲-۷ استونیتریل، مناسب برای UV (توصیه می‌شود هر دسته حلال قبل از استفاده مورد آزمون قرار گیرد)

۳-۷ پرکلریک اسید، با کسر جرمی % ۶۰، جرم حجمی ۱،۵۱ kg/l، درجه واکنشگر (یادآوری را ببینید) یادآوری - از بهترین منبع تهیه شود.

۴-۷ هیدروکلریک اسید، با کسر جرمی % ۳۶/۵ تا % ۳۸، جرم حجمی ۱،۱۹ Kg/l، درجه واکنشگر (یادآوری بند ۳-۷)

۵-۷ هیدروکلریک اسید، محلول با غلظت ۲ mol/l، درجه واکنشگر (یادآوری بند ۳-۷ را ببینید)

۶-۷ فرمالدهید، با کسر جرمی % ۳۷، درجه واکنشگر (یادآوری بند ۳-۷ را ببینید)

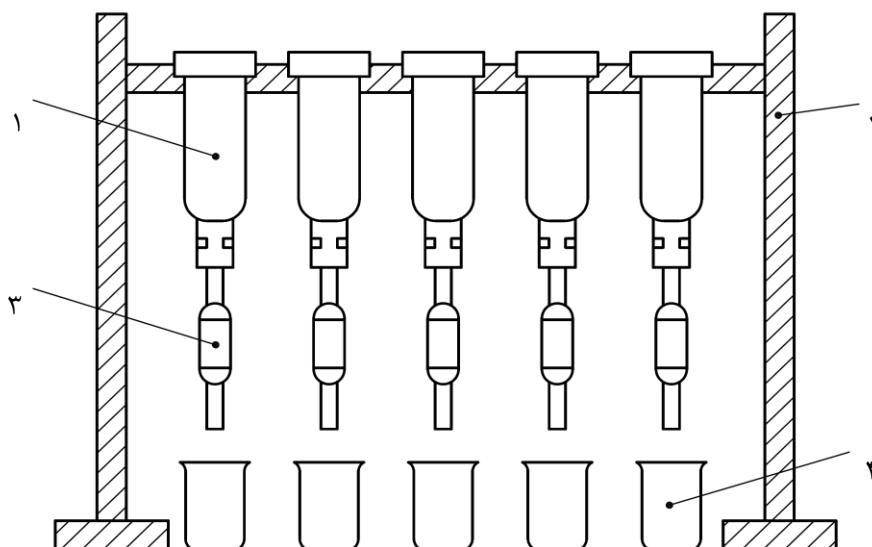
۷-۷ آلدئیدها و کتون‌ها، خلوص بالا، مورد استفاده برای تهیه استانداردهای مشتق DNPH (اختیاری)

۸-۷ اتانول یا متانول، مناسب برای HPLC

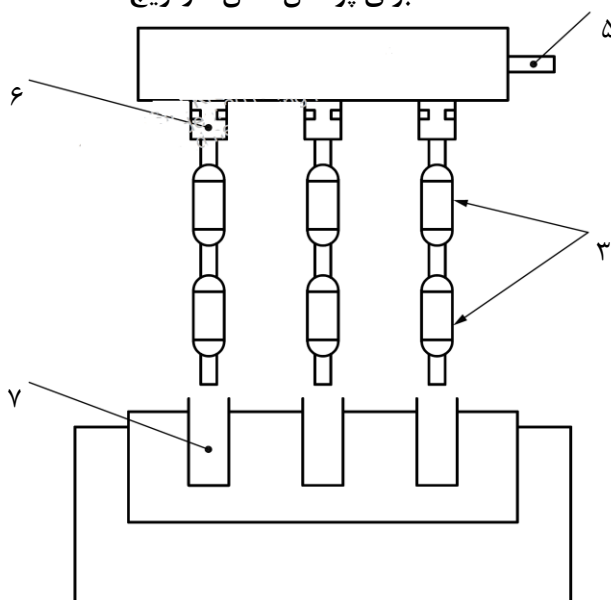
۹-۷ نیتروژن، با درجه خلوص بالا (یادآوری بند ۳-۷ را ببینید)

۱۰-۷ زغال چوب، گرانولی (یادآوری بند ۳-۷ را ببینید)

۱۱-۷ هلیم، با درجه خلوص بالا (یادآوری بند ۳-۷ را ببینید)



الف- قفسه برای پوشش دادن کارتریج‌ها



ب- قفسه برای خشک کردن کارتریج‌های پوشش داده شده با DNPH

راهنما:

۱	سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰ ml	۵	جریان گاز N_2
۲	قفسه لوله آزمایش	۶	رابط سرنگ
۳	کارتریج‌ها	۷	ویال‌های ضایعات
۴	ظروف ضایعات		

شکل ۳- قفسه سرنگ برای پوشش و خشک کردن کارتریج‌های نمونه

۸ آماده‌سازی واکنشگرها و کارتریج‌ها

۸-۱ خالص‌سازی ۴،۲-دی‌نیتروفنیل هیدرازین

آلودگی فرمالدهید ناشی از واکنشگر DNP-H یک مشکل رایج است. DNP-H (بند ۷-۱) باید به‌وسیله چند بار تبلور مجدد در استونیتریل (بند ۷-۲) خالص‌سازی شود. تبلور مجدد در دمای 40°C تا 60°C به‌وسیله تبخیر تدریجی حلال انجام می‌شود تا این‌که حداکثر اندازه بلور به‌دست آید. سطوح ناخالصی ترکیبات کربونیلی در DNP-H قبل از استفاده به‌وسیله HPLC تعیین می‌شود و بهتر است در هر کارتریج و هر ترکیب کمتر از $0.15\ \mu\text{g}$ باشد.

یک محلول فوق اشباع از DNP-H را به‌وسیله جوشاندن مقدار اضافی DNP-H در $200\ \text{ml}$ از استونیتریل به مدت تقریباً یک ساعت آماده کنید. آن را بعد از یک ساعت بردارید و محلول شناور را به یک بشر درپوش‌دار بر روی یک صفحه داغ منتقل کنید و اجازه دهید به تدریج تا دمای 40°C تا 60°C خنک شود. محلول را در این دما (40°C) نگه دارید تا این‌که 95% کسر حجمی حلال تبخیر شود. محلول را دور بریزید و بلورهای باقی‌مانده را دو تا سه بار با حجم مناسبی از استونیتریل (بند ۷-۲) بشویید. بلورها را به بشر تمیز دیگری منتقل کنید. $200\ \text{ml}$ استونیتریل (بند ۷-۲) اضافه کنید. سپس حرارت دهید تا بجوشد. دوباره اجازه دهید بلورها به تدریج در دمای 40°C تا 60°C رشد کنند تا این‌که 95% کسر حجمی حلال تبخیر شود. فرآیند شستشو را مانند فوق تکرار کنید. یک قسمتی از محلول شستشو دوم را بردارید و با استونیتریل تا 10 برابر رقیق کنید. سپس آن را با $1\ \text{ml}$ از پرکلریک اسید $3.8\ \text{mol/l}$ (بند ۷-۳) به ازای $100\ \text{ml}$ محلول DNP-H اسیدی کنید. مطابق بند ۹-۳-۴ به‌وسیله HPLC آنالیز کنید.

هشدار- این کار را زیر یک هود تهویه مناسب و پشت یک محافظ انفجار انجام دهید.

یادآوری- برای کاتالیز واکنش ترکیبات کربونیلی با DNP-H، یک اسید لازم است. بیشتر اسیدهای غیرآلی قوی از قبیل هیدروکلریک اسید، سولفوریک اسید، فسفریک اسید یا پرکلریک اسید به‌طور رضایت‌بخشی این کار را انجام می‌دهند. در موارد کمی، هیدروکلریک اسید و سولفوریک اسید مشکلاتی را ایجاد می‌کنند.

یک سطح ناخالصی قابل قبول، کمتر از $0.25\ \mu\text{g/ml}$ فرمالدهید هیدرازون در واکنشگر DNP-H تبلور مجدد شده یا 0.2% کسر جرمی از DNP-H می‌باشد.

در صورتی که سطح ناخالصی برای کاربرد نمونه‌برداری موردنظر، قابل قبول نباشد، تبلور مجدد را تکرار کنید. بلورهای خالص‌سازی شده را به یک ظرف واکنشگر تمام شیشه‌ای منتقل کنید. $200\ \text{ml}$ استونیتریل (بند ۷-۲) اضافه کنید. درپوش ظرف را ببندید. به آرامی تکان دهید. سپس اجازه دهید یک شب بماند. محلول شناور را به‌وسیله HPLC مطابق بند ۹-۳-۴ آنالیز کنید. در صورتی که سطح ناخالصی رضایت‌بخش نیست، محلول را با استفاده از پی‌پت دور بریزید. سپس $25\ \text{ml}$ استونیتریل را به بلورهای خالص‌سازی شده، اضافه کنید. شستشو را با قسمت‌های $20\ \text{ml}$ از استونیتریل تکرار کنید تا این‌که یک سطح ناخالصی کم و رضایت‌بخشی در محلول شناور به‌وسیله آنالیز HPLC تایید شود.

در صورتی که سطح ناخالصی رضایت‌بخش است، ۲۵ ml دیگر از استونیتریل اضافه کنید. درپوش ظرف را ببینید. ظرف واکنشگر را تکان دهید. سپس آن را کنار بگذارید. محلول اشباع در بالای بلورهای خالص شده، واکنشگر DNP-H ذخیره می‌باشد. فقط یک حداقل حجم از محلول اشباع که برای عملکرد روزانه مناسب است را نگه‌دارید. این کار پس‌اب ناشی از واکنشگر خالص شده را به‌حداقل می‌رساند. این کار برای شستشوی مجدد بلورها به‌منظور کاهش سطح ناخالصی برای کاربردهایی که نیازمند مشخصات خلوص دقیق‌تری هستند، لازم است. در هر عملکرد تجزیه‌ای، هنگام برداشتن محلول ذخیره DNP-H اشباع از پی‌پت‌های تمیز استفاده کنید. محلول ذخیره را از ظرف واکنشگر بیرون نریزید.

۸-۲ آماده‌سازی مشتق DNP-H - فرمالدهید

مقدار کافی از هیدروکلریک اسید با غلظت ۲ mol/l (بند ۷-۵) را به یک قسمت از DNP-H تبلور مجدد شده (بند ۸-۱) اضافه کنید تا یک محلول تقریباً اشباع به‌دست آید. سپس به این محلول مقداری فرمالدهید (بند ۷-۶) اضافه کنید به طوری که غلظت آن بیشتر از غلظت مولی DNP-H شود. رسوب DNP-H - فرمالدهید را صاف کنید. آن را با هیدروکلریک اسید (بند ۷-۵) و آب شستشو دهید و اجازه دهید در هوا خشک شود. خلوص مشتق DNP-H - فرمالدهید را به‌وسیله تعیین نقطه ذوب (۱۶۵ °C تا ۱۶۶ °C) یا آنالیز HPLC بررسی کنید. در صورتی که سطح ناخالصی قابل قبول نیست، ترکیب مشتق را در اتانول (بند ۷-۸) تبلور مجدد کنید. بررسی خلوص و تبلور مجدد را تا جایی که لازم است تکرار کنید تا این که یک سطح قابل قبول خلوص (برای مثال ۹۹٪ کسر جرمی) به‌دست آید.

بهتر است مشتق DNP-H - فرمالدهید را در یخچال (دمای ۴ °C) ذخیره و دور از نور نگه‌داری کنید. این محلول به مدت حداقل ۶ ماه پایدار است. به‌منظور افزایش طول عمر ترکیب مشتق، آن را تحت نیتروژن (بند ۷-۹) یا آرگون نگه‌داری کنید.

نقطه ذوب مشتقات DNP-H چند ترکیب کربونیلی در پیوست ب آورده شده است. مشتقات DNP-H حاصل از فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر (بند ۷-۷) مناسب برای استفاده به صورت استاندارد هم به شکل بلور خالص و هم جداگانه یا محلول ذخیره مخلوط شده با استونیتریل به‌صورت تجاری در دسترس هستند.

۸-۳ آماده‌سازی استانداردهای DNP-H - فرمالدهید

یک محلول ذخیره استاندارد از مشتقات DNP-H - فرمالدهید را به‌وسیله حل کردن مقادیر دقیق وزن شده از آن‌ها در استونیتریل (بند ۷-۲) تهیه کنید. از محلول ذخیره استاندارد، یک مخلوط استاندارد کالیبراسیون کاری تهیه کنید.

توصیه می‌شود غلظت مشتق DNP-H - فرمالدهید در محلول‌های مخلوط استاندارد به‌گونه‌ای تنظیم شود که محدوده غلظت‌های مورد انتظار در نمونه‌های حقیقی را منعکس کند.

محلول‌های ذخیره جداگانه‌ای با غلظت تقریباً ۱۰۰ mg/l می‌تواند با حل کردن ۱۰ mg مشتق جامد در ۱۰۰ ml استونیتریل تهیه شود. از محلول جداگانه برای تهیه استانداردهای کالیبراسیون شامل مشتق مورد نظر در غلظت‌های ۰٫۵ µg/ml تا ۲۰ µg/ml، به‌طوری که در محدوده غلظت موردنظر باشد، استفاده کنید.

همه‌ی محلول‌های استاندارد را در ظرف‌های درپوش‌دار محکم در یخچال ذخیره کنید و دور از نور نگه‌دارید. قبل از استفاده، اجازه دهید به دمای اتاق برسند. توصیه می‌شود بعد از ۴ هفته تعویض شوند.

۸-۴ آماده‌سازی کارتریج‌های سیلیکاژل پوشش داده شده با DNP

۸-۴-۱ کلیات

این روش کار باید در یک اتمسفر با غلظت زمینه آلدئید خیلی کم انجام شود. همه ظروف شیشه‌ای و پلاستیکی باید کاملاً با آب یون‌زدایی‌شده و استونیتریل فاقد آلدئید (بند ۷-۱۲) تمیز و شستشو شوند. تماس واکنشگرها با هوای آزمایشگاه باید به حداقل برسد. باید هنگام جابه‌جایی کارتریج‌ها دستکش‌های پلی‌اتیلنی پوشیده شود.

۸-۴-۲ محلول پوشش‌دهنده DNP

۳۰ ml محلول ذخیره DNP اشباع را با استفاده از یک پی‌پت درون یک بالن حجم‌سنجی ۱۰۰۰ ml بریزید. ۵۰۰ ml استونیتریل (بند ۷-۲) به آن اضافه کنید. سپس آن را با ۱۰ ml هیدروکلریک اسید غلیظ (بند ۷-۵) اسیدی کنید.

توصیه می‌شود به منظور به حداقل رساندن آلودگی هوای آزمایشگاه، ترجیحاً اتمسفر بالای محلول اسیدی از میان کارتریج سیلیکاژل پوشش داده شده با DNP صاف شود. محلول را تکان دهید. سپس با استونیتریل (بند ۷-۲) به حجم برسانید. درپوش بالن را ببندید. آن را وارونه کنید و چند بار تکان دهید تا این که محلول همگن شود. محلول اسیدی را به یک ظرف واکنشگر مجهز به یک توزیع‌کننده با جابه‌جایی مثبت با ظرفیت بین ۰ ml تا ۱۰ ml منتقل کنید.

توزیع‌کننده را آماده کنید و ۱۰ ml تا ۲۰ ml از آن را به آرامی به پساب منتقل کنید. یک قسمت از محلول را در یک ویال نمونه پخش کنید. سپس سطح ناخالصی محلول اسیدی را به وسیله HPLC مطابق بند ۹-۳-۴ بررسی کنید. بهتر است سطح ناخالصی فرمالدهید کمتر از ۰/۰۲۵ µg/ml باشد.

۸-۴-۳ پوشش کارتریج‌های سیلیکاژل

بسته‌بندی کارتریج را باز کنید. انتهای کوتاه کارتریج سیلیکاژل (بند ۶-۱-۱) را به یک سرنگ ۱۰ ml وصل کنید و آن را مطابق شکل ۳ در قفسه سرنگ قرار دهید. ۱۰ ml استونیتریل (بند ۷-۲) را با استفاده از یک پی‌پت جابه‌جایی مثبت با نوک قابل تعویض (بند ۶-۳-۲-۴) به هر یک از سرنگ‌ها اضافه کنید. اجازه دهید مایع به وسیله نیروی گرانش به پساب تخلیه شود.

حباب‌های هوایی که ممکن است بین سرنگ و کارتریج سیلیکا به دام افتاده باشند را به وسیله جایگزین کردن آن‌ها با استونیتریل در سرنگ خارج کنید.

توزیع‌کننده با نوک قابل تعویض حاوی محلول پوشش DNP اسیدی شده را به منظور توزیع ۷ ml از این محلول به داخل کارتریج‌ها تنظیم کنید. جریان شویش در خروجی کارتریج را متوقف کنید. ۷ ml از واکنشگر پوشش را داخل هر یک از سرنگ‌ها توزیع کنید. اجازه دهید واکنشگر پوشش به وسیله نیروی

گرانس از کارتريج تخلیه شود تا این که جریان در انتهای دیگر کارتريج متوقف شود. مایع اضافی در خروجی هر یک از کارتريج‌ها را با دستمال کاغذی تمیز کنید.

چندراهه خشک‌کننده را مطابق شکل ۳ نصب کنید. چندراهه خشک‌کننده شامل یک کارتريج پوشش داده شده با DNPH از قبل آماده شده در انتهای مجاری خروجی می‌باشد (برای مثال کارتريج‌های اسکرابر یا محافظ). کارتريج‌های محافظ برای زدودن مقادیر جزئی فرمالدهید که ممکن است در منبع گاز نیتروژن وجود داشته باشد، به کار می‌رود. این کارتريج‌های محافظ می‌توانند به وسیله خشک کردن تعدادی از کارتريج‌های پوشش دار جدید مطابق با دستور کارهای زیر تهیه شوند و از آن‌ها به منظور اطمینان از خلوص عدم آلودگی دیگر کارتريج‌های نمونه‌برداری استفاده شود.

رابطه‌های کارتريج را بر روی انتهای بلند کارتريج‌های اسکرابر جاسازی کنید (در هر دو انتها حرارت داده شود، لوله پلی تترا فلورو اتیلن (PTFE)^۱ با قطر خارجی ۲٫۵ cm، طول ۰٫۶۴ cm و قطر داخلی کمی کوچک‌تر از قطر خارجی دهانه کارتريج)

کارتريج‌ها را از سرنگ‌ها جدا کنید و انتهای کوتاه کارتريج‌ها را به انتهای باز اتصال‌دهنده‌های کارتريج که از قبل به کارتريج‌های اسکرابر متصل شده‌اند، وصل کنید.

گاز نیتروژن (بند ۷-۹) را از درون هر یک از کارتريج‌ها با نرخ حدود ۳۰۰ ml/min تا ۴۰۰ ml/min عبور دهید. سطوح خروجی و انتهای خروجی کارتريج‌ها را با استفاده از یک پی‌پت پاستور^۲ به وسیله استونیتریل بشویید. جریان نیتروژن را بعد از ۱۵ دقیقه قطع کنید. داخل کارتريج را از هر گونه استونیتریل پاک کنید و کارتريج‌های خشک را خارج کنید. هر دو انتهای کارتريج‌های پوشش دار را با استفاده از متصل‌کننده‌های سرنگی استاندارد پلی پروپیلنی متصل کنید و کارتريج متصل شده را در یک لوله کشت میکروب از جنس شیشه بوروسیلیکات دارای درپوش پیچی پلی پروپیلنی (بند ۶-۲-۱) قرار دهید.

شماره سریال و شماره بهر^۳ را بر روی هر یک از محفظه‌های شیشه‌ای نگه‌داری کارتريج برچسب بزنید و بهر آماده شده را تا زمان استفاده در یخچال قرار دهید.

مشخص شده است که کارتريج‌های نمونه‌برداری زمانی که در دمای ۴ °C دور از نور ذخیره می‌شوند به مدت حداقل ۶ ماه پایدار هستند.

۹ روش انجام آزمون

۹-۱ جمع‌آوری نمونه

سیستم نمونه‌برداری را راه‌اندازی کنید. مطمئن شوید که پمپ (بند ۶-۱-۲) قادر به تامین نرخ جریان ثابت در تمام دوره نمونه‌برداری باشد. زمانی که دما بالاتر از ۱۰ °C است کارتريج‌های نمونه‌برداری (بند ۶-۱-۱) را می‌توان بدون خطر برای نمونه‌برداری از هوا استفاده کرد. در صورت لزوم یک ازون‌زدا یا اسکرابر اضافه کنید (بند ۴-۲ را ببینید).

1- Polytetrafluoroethylen
2- Pasteur pipette
3- Lot number

پیش از جمع‌آوری نمونه، سیستم را از نظر نشتی بررسی کنید. ورودی (انتهای کوتاه) کارتریج را ببندید به نحوی که هیچ جریانی در انتهای خروجی پمپ مشاهده نشود. بهتر است جریان‌سنج هیچ جریانی هوایی از میان دستگاه نمونه‌برداری را نشان ندهد.

در زمانی که دوره‌های نمونه‌برداری طولانی است یا به‌صورت خودکار انجام می‌شود، یک کنترل‌کننده جریان جرمی (بند ۶-۱-۳) یا در صورت مناسب بودن، یک پمپ نمونه‌برداری اختصاصی جبران‌کننده جهت حفظ جریان ثابت، اکیدا توصیه می‌شود. بهتر است کنترل‌کننده جریان حداقل ۲۰٪ زیر حداکثر نرخ جریان هوای عبوری از کارتریج تنظیم شود.

یادآوری ۱- سیلیکاژل در کارتریج بین دو صافی شیشه‌ای با تخلخل ریز قرار دارد. در صورتی که ذرات انتقال یافته با هوا، در جلوی صافی ته‌نشین شوند، جریان هوا در طی نمونه‌برداری می‌تواند تغییر کند. زمانی که نمونه‌برداری از اتمسفرهای پر از ذرات انجام شود، تغییر جریان می‌تواند قابل توجه باشد.

تمام مجموعه (شامل یک کارتریج نمونه‌برداری "مصنوعی" را نصب کنید و بررسی کنید که نرخ جریان نزدیک مقدار نرخ جریان مورد نظر باشد. توصیه می‌شود مقدار نرخ جریان‌های ۰٫۵ l/min تا ۱٫۲ l/min باشند. تعداد کل مول‌های کربونیل در حجم هوای نمونه‌برداری شده از تعداد مول‌های DNP (۲ mg یا کارتریج/۰٫۱ mol؛ ۱ mg تا کارتریج/۲ mg برای کارتریج‌های پوشش دار تجاری) نباید تجاوز کند. به‌طور کلی، برآورد صحیح اندازه نمونه بهتر است کمتر از ۷۵٪ جرم DNP بارگذاری کارتریج باشد [۱۰۰ µg تا ۲۰۰ µg به‌صورت HCHO نسبت به مزاحمت‌ها در نظر گرفته می‌شود (بند ۴ را ببینید)]. به‌طور کلی، کالیبراسیون می‌تواند با استفاده از یک جریان‌سنج حباب صابونی یا آزمون ترسنج کالیبره شده (بند ۶-۱-۴) متصل به خروجی جریان انجام شود، فرض کنید سیستم فاقد نشتی است.

یادآوری ۲- استاندارد EN 1232 طرح کالیبراسیون مناسبی را نشان می‌دهد که به سیستم جریان درزبندی شده دور از پمپ نیازی نیست.

به‌منظور اندازه‌گیری حجم نمونه، نرخ جریان نمونه‌برداری در ابتدا و انتهای دوره نمونه‌برداری را ثبت و اندازه‌گیری کنید. در صورتی که نمونه‌برداری بیش‌تر از دو ساعت طول بکشد بهتر است نرخ جریان در اواسط دوره نمونه‌برداری اندازه‌گیری شود. جریان‌سنج چرخانی قرار دهید تا مشاهده نرخ جریان بدون توقف فرآیند نمونه‌برداری فراهم شود (به صورت جایگزین، یک پمپ نمونه‌برداری که نرخ جریان را به‌طور مستقیم اندازه‌گیری و به‌صورت پیوسته ثبت می‌کند می‌تواند استفاده شود).

قبل از نمونه‌برداری، محفظه کارتریج را از محفظه فلزی درپوش‌دار مناسب خارج کنید. اجازه دهید کارتریج قبل از اتصال به مجموعه نمونه‌برداری در یک لوله شیشه‌ای تا دمای اتاق گرم شود.

در مورد کارتریج پوشش داده شده با DNP تجاری، اجازه دهید که کارتریج قبل از اتصال به مجموعه نمونه‌برداری تا دمای اتاق گرم شود.

با استفاده از دستکش‌های پلی اتیلنی (بند ۶-۲-۲) درپوش‌های سرنگ را برداشته و کارتریج را با استفاده از یک رابط سرنگ مناسب به سیستم نمونه‌برداری وصل کنید.

کارتریج را به مجموعه نمونه برداری وصل کنید به طوری که انتهای کوتاه، محل ورود نمونه شود. هنگام استفاده از کارتریج های تجاری پوشش داده شده با DNPH از دستورکارهای سازنده پیروی کنید. برخی از کارتریج های تجاری ممکن است لوله های شیشه ای درزبندی شده باشند. برای این نوع کارتریج ها، انتهای کارتریج را به وسیله یک لوله شکن بشکنید. کارتریج را از انتهای دارای کمترین مقدار جاذب به مجموعه نمونه برداری وصل کنید به طوری که مقدار بیشتر جاذب در ورودی هوا باشد. هنگامی که انتهای شکسته را جابه جا می کنید نهایت دقت را داشته باشید.

نمونه بردار را روشن کنید و جریان را بر روی نرخ مورد نظر تنظیم کنید. نرخ جریان معمول از میان یک کارتریج 1/min و برای دو کارتریج پشت سرهم 0.8 l/min است. نمونه بردار را با ثبت متناوب متغیرهای نمونه برداری برای مدت مورد نظر به کار اندازید.

در صورتی که دمای هوای محیط در طی نمونه برداری کمتر از 10 °C است، بهتر است کارتریج نمونه برداری را در یک محیط گرم تر نگهداری کنید. هیچ گونه اثرات قابل توجهی در مورد رطوبت نسبی برای نمونه برداری تحت شرایط آب و هوایی مختلف مشاهده نشده است - ماه های زمستانی سرد، خشک و خیس مانند ماه های تابستانی مرطوب و گرم می باشد.

در انتهای دوره نمونه برداری، نرخ جریان را دقیقاً قبل از توقف جریان بررسی کنید. در صورتی که نرخ های جریان در ابتدا و انتهای دوره نمونه برداری بیش از 10٪ تفاوت دارند، باید نمونه مشکوک تلقی شود. در صورتی که نیاز به تبدیل غلظت ها به شرایط استاندارد (دما و فشار) با استفاده از محاسبه است، باید دما و فشار طی نمونه برداری اندازه گیری شود.

بلافاصله بعد از نمونه برداری، کارتریج را با استفاده از دستکش های پلی اتیلنی از سیستم نمونه برداری خارج کرده و به وسیله درپوش های انتهایی اصلی پوشانده و آن را به محفظه برچسب دار اولیه برگردانید. سپس به وسیله نوار PTFE آن را درزبندی کرده و در یک محفظه فلزی درپوش دار مناسب (بند ۶-۲-۳) محتوای زغال فعال گرانولی (بند ۷-۱۰) به عمق ۲ cm تا ۵ cm یا در ظرف مناسب دیگر با پرکننده مناسب قرار دهید. در صورت امکان، مجاز است از یک کیسه پلاستیکی آستردار شده با ورقه نازک که به وسیله گرما قابل درزبندی است برای نگهداری کارتریج بدون پوشش استفاده شود. کارتریج استفاده شده برای نمونه برداری را تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری کنید. بهتر است زمان نگهداشتن در یخچال قبل از آنالیز از ۳۰ روز تجاوز نکند.

اگر نمونه ها برای آنالیز به یک آزمایشگاه مرکزی منتقل می شوند، بهتر است مدت زمانی که کارتریج در یخچال نگهداری نمی شود، ترجیحاً کمتر از ۲ روز باشد.

میانگین نرخ جریان نمونه، \bar{q}_V ، با استفاده از رابطه ۱ به دست می آید:

$$= \frac{q_1 + q_2 + \dots + q_n}{n} \bar{q}_V \quad (1)$$

که در آن:

\bar{q}_V میانگین نرخ جریان، برحسب میلی لیتر بر دقیقه؛

q_1, q_2, \dots, q_n نرخ جریان های اندازه گیری شده در مراحل ابتدا، انتها و میانی در طی نمونه برداری؛

n تعداد اندازه‌گیری‌ها می‌باشد.
 سپس جریان کل با استفاده از رابطه ۲ به دست می‌آید:

$$V_m = \frac{(t_2 - t_1) \times \bar{q}_V}{1000} \quad (2)$$

که در آن:

V_m حجم کل نمونه برداری شده، بر حسب لیتر در دما و فشار اندازه‌گیری شده؛
 t_2 زمان توقف، بر حسب دقیقه؛
 t_1 زمان شروع، بر حسب دقیقه؛
 $t_2 - t_1$ زمان کل نمونه برداری، بر حسب دقیقه؛
 \bar{q}_V میانگین نرخ جریان، بر حسب میلی‌لیتر بر دقیقه می‌باشد.

۲-۹ شاهد های فرآیند

حداقل یک شاهد زمینه باید با هر مجموعه از نمونه‌ها آنالیز شود. برای مجموعه‌های با بیش از ۱۰ نمونه، باید حداقل ۱۰٪ نمونه‌های آنالیز شده، شاهد های زمینه باشند. بهتر است تعداد نمونه‌ها در یک گروه یا چارچوب زمانی یا هر دو ثبت شوند به طوری که درصد مشخصی از شاهد های زمینه برای تعداد معینی از نمونه‌های هوا فراهم شوند. با شاهد زمینه، مشابه نمونه‌ها عمل می‌شود با این تفاوت که هیچ هوایی از میان کارتریج عبور نمی‌کند. توصیه می‌شود که معیارهای کارایی بیان شده در بند ۹-۱ برای شاهد های فرآیند انجام شوند. جهت تمایز بین زمینه ممکن و آلودگی آزمایشگاهی، آنالیز کارتریج‌های شاهد نگهداری شده در آزمایشگاه (شاهد های آزمایشگاهی) به همان اندازه مطلوب است.

۳-۹ آنالیز نمونه

۱-۳-۹ آماده سازی نمونه

نمونه‌ها را در یک محفظه جداگانه مناسب با ۲ cm تا ۵ cm زغال فعال گرانولی (بند ۷-۱۰) به آزمایشگاه انتقال دهید و آن‌ها را تا قبل از آنالیز در یخچال نگهداری کنید. به طور جایگزین، مجاز است که نمونه‌ها را به تنهایی در محفظه‌های مختص به خودشان نگهداری کرد. زمان بین نمونه برداری و آنالیز بهتر است از ۳۰ روز تجاوز نکند.

۲-۳-۹ واجذب نمونه

کارتریج نمونه (ورودی یا انتهای کوتاه طی نمونه برداری) را به یک سرنگ تمیز وصل کنید. برای جلوگیری از ورود ذرات غیر قابل حل به داخل محلول شویش، جریان مایع در طول واجذب بهتر است در همان جهت جریان هوا طی نمونه برداری باشد. چنانچه محلول شویش پیش از آنالیز HPLC صاف شود ممکن است واجذب معکوس انجام شود، باید با هر دسته از نمونه‌ها، یک محصول استخراج شاهد صاف شده جهت تایید این که هیچ آلودگی به وسیله صاف کردن وارد نمونه نشده است، آنالیز شود.

کارتريچ و سرنگ را در قفسه سرنگ قرار دهيد. مشتقات DNPB کربونيلها و DNPB واکنش نداده را با عبور ۵ ml استونيتريل (بند ۷-۲) به وسيله سرنگ از طريق کارتريچ به طور ثقلی به یک لوله آزمایش مدرج یا یک بالن حجم سنجی ۵ ml از کارتريچ واجذب کنید. بسته به کارتريچ نمونه برداری مورد استفاده، مجاز است که حجم های دیگری از استونيتريل به کار رود.

یادآوری - یک کارتريچ خشک، دارای یک حجم نگه داشت استونيتريل کمی بیش تر از ۱ ml است. به دلیل هوای به دام افتاده بین صافی کارتريچ و نوک رابط سرنگ، جریان محلول شوی می تواند پیش از تخلیه کامل استونيتريل موجود در سرنگ به داخل کارتريچ، متوقف گردد. اگر این اتفاق رخ دهد به وسيله یک پی پت پاستور یکبار مصرف نوک بلند، هوای به دام افتاده را با استونيتريل موجود در سرنگ جایگزین کنید.

بالن ۵ ml را با استونيتريل تا خط نشانه به حجم برسانید. بالن را با مشخصات نمونه برچسب بزنید. قسمتی از محتویات بالن را با استفاده از یک پی پت به یک ویال نمونه دارای درپوش غشایی درزبندی شده با آستر PTFE منتقل کنید. سپس آن را برای تعیین مشتقات کربونيل به وسيله HPLC آنالیز کنید. به عنوان یک پشتیبان، مجاز است که قسمت دوم از محتویات بالن را بردارید و تا زمانی که نتایج آنالیز قسمت اول کامل و تایید گردند در یخچال نگه داری کنید. در صورت نیاز، قسمت دوم می تواند جهت آنالیز تاییدی استفاده شوند.

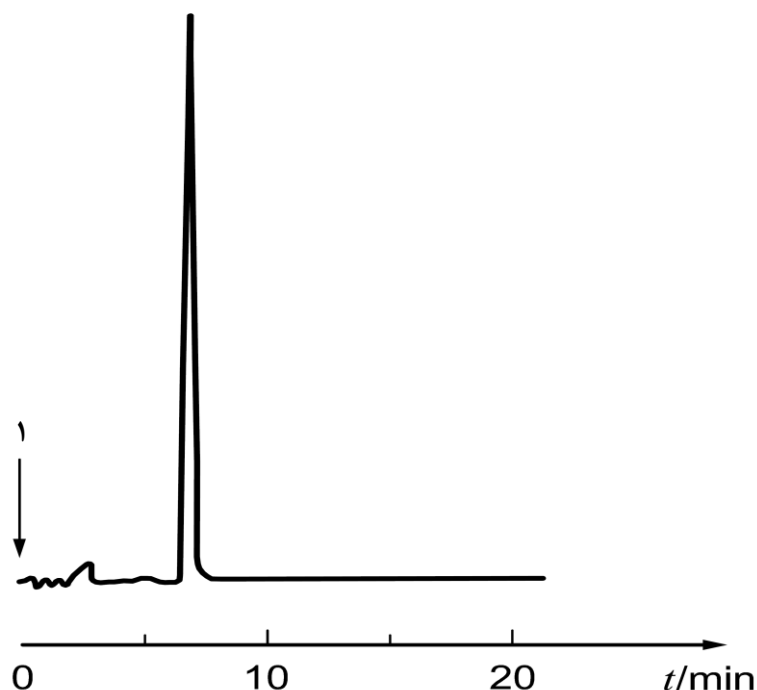
برای لوله های نمونه برداری DNPB درزبندی شده شیشه ای که حاوی دو بستر جاذب هستند، درپوش انتهایی لوله مجاور به لایه جاذب دوم (انتهای خروجی) را بردارید. حلقه ارتجاعی و درپوش پشم شیشه نگه دارنده لایه جاذب دوم را به دقت بردارید. جاذب را به داخل یک ظرف شیشه ای ۴ ml تمیز دارای درپوش غشایی درزبندی شده با آستر PTFE یا سرپوش تخلیه کنید و آن را به عنوان بخش نمونه برداری پشتیبان نشانه گذاری کنید. درپوش پشم شیشه ای بعدی را با دقت بردارید و جاذب باقی مانده را به داخل ظرف ۴ ml دیگری تخلیه کنید و آن را به عنوان بخش نمونه برداری اولیه نشانه گذاری کنید. ۳ ml استونيتريل را با استفاده از پی پت با دقت به داخل هر ظرف منتقل کنید. سپس درپوش ظرف ها را گذاشته و در حالی که گاهی آن را هم می زنید، اجازه دهید به مدت ۳۰ دقیقه ساکن بماند.

۹-۳-۳ کالیبراسیون HPLC

استانداردهای کالیبراسیون مشتق DNPB- فرمالدهید را در استونيتريل (بند ۷-۲) تهیه کنید (بند ۸-۳ را ببینید). محلول های ذخیره جداگانه ای با غلظت ۱۰۰ mg/l را به وسيله انحلال ۱۰ mg مشتق جامد در ۱۰۰ ml فاز متحرک تهیه کنید.

هر استاندارد کالیبراسیون (حداقل ۵ سطح) را دو بار آنالیز کنید و سطح زیر پیک را در مقابل جرم تزریقی جدول بندی کنید (یا مناسب تر، برای یک حجم ثابت لوپ برحسب DNPB- فرمالدهید تزریق شده، شکل ۴ و ۵ را ببینید). ادامه تمام کالیبراسیون ها را همان طور که برای آنالیز نمونه در بند ۹-۳-۴ بیان شده، انجام دهید. به منظور جلوگیری از خطای ناشی از انتقال، با غلظت های کم تر شروع کنید. از آشکارساز UV یا آرایه دیودی استفاده کنید. بهتر است برای حجم های تزریقی ۲۵ µl یک پاسخ خطی در محدوده تقریبی ۰.۵ µg/ml تا ۲۰ µg/ml به دست آید. همان طور که در شکل ۶ نشان داده شده است این نتایج می توانند

برای تهیه یک منحنی کالیبراسیون به کار روند. پاسخ خطی زمانی است که ضریب همبستگی برای حداقل مربعات یک سری از داده‌های خطی (غلظت در مقابل سطح پیک) حداقل برابر با ۰/۹۹۹ به دست آید. تغییرات زمان بازداری برای هر آنالیت بهتر است در محدوده‌ی ۲٪ به دست آید.



راهنما:

t زمان، بر حسب دقیقه

۱ تزریق

پارامترهای کاری HPLC

ستون : فاز معکوس C₁₈

فاز متحرک : ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب

آشکارساز : فرابنفش (UV)، در طول موج ۳۶۰ nm

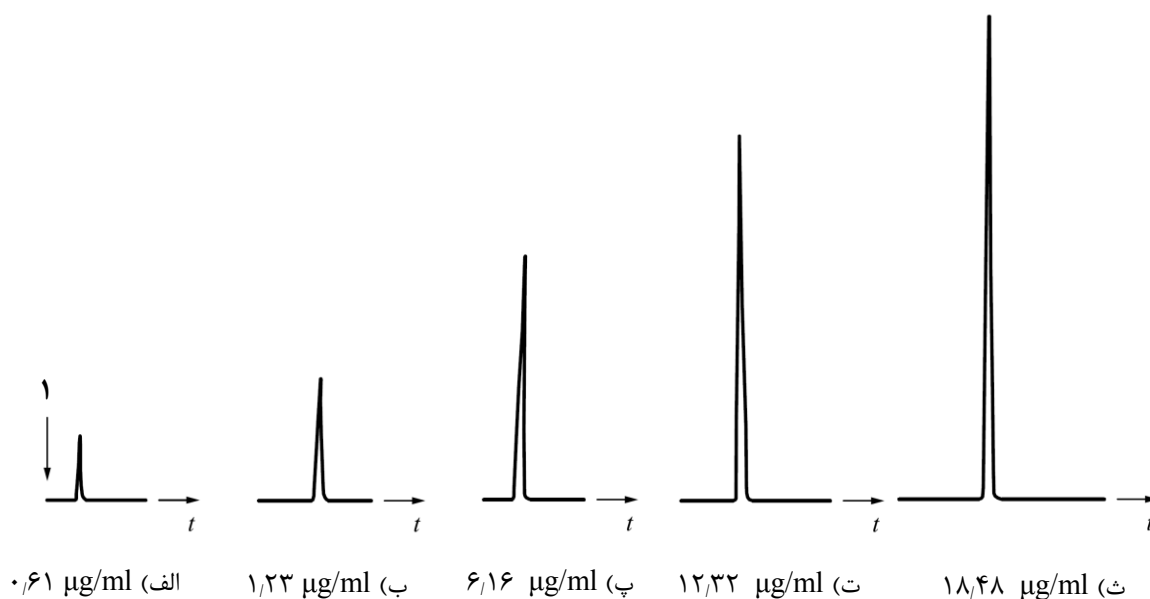
نرخ جریان : ۱ ml/min

زمان بازداری : حدود ۷ دقیقه برای فرمالدهید

حجم تزریق نمونه : ۲۵ µl

شکل ۴- مثالی از کروماتوگرام مشتق DNP- فرمالدهید

پس از کالیبراسیون و ثبت پاسخ خطی، توصیه می‌شود یک استاندارد با غلظت متوسط نزدیک به سطوح مورد انتظار از هر ترکیب، اما حداقل ۱۰ برابر حد تشخیص، برای کالیبراسیون روزانه انتخاب شود. بهتر است تغییرات پاسخ روزانه برای ترکیبات مختلف با غلظت‌های آنالیت ۱ µg/ml یا بیشتر در محدوده‌ی ۱۰٪ و با غلظت‌های آنالیت نزدیک به ۰/۵ µg/ml، کمتر از ۲۰٪ باشد. در صورتی که تغییرات بزرگ‌تر مشاهده شد مجدداً کالیبره کنید یا با استفاده از استانداردهای تازه، یک منحنی کالیبراسیون جدید رسم کنید.



راهنما:

t زمان، برحسب دقیقه

۱ تزریق

پارامترهای کاری HPLC

ستون : فاز معکوس C_{18} (قطر داخلی $4.6 \text{ mm} \times 25 \text{ cm}$ یا معادل آن)

فاز متحرک : 60% کسر حجمی استونیتریل + 40% کسر حجمی آب

دمای ستون : 25°C

آشکارساز : فرابنفش (UV)، در طول موج 360 nm

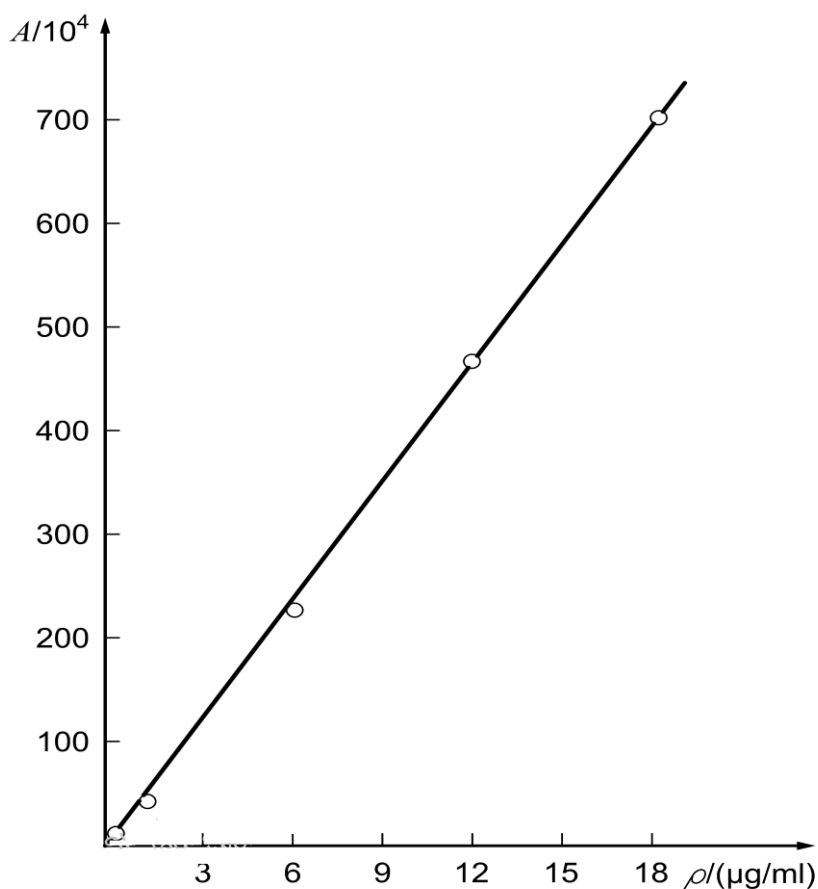
نرخ جریان : 1 ml/min

زمان بازداری : حدود ۷ دقیقه برای فرمالدهید

حجم تزریق نمونه : $25 \mu\text{l}$

غلظت $\mu\text{g/ml}$	سطح زیر پیک
۰٫۶۱	۲۲۶۵۴۱
۱٫۲۳	۴۵۲۱۶۶
۶٫۱۶	۲۲۵۷۲۷۱
۱۲٫۳۲	۴۷۱۱۴۰۸
۱۸٫۴۸	۶۹۵۳۸۱۲

شکل ۵- مثالی از کروماتوگرام HPLC برای غلظت‌های مختلفی از مشتق DNP- فرمالدهید



راهنما:

A سطح زیر پیک

ρ غلظت جرمی مشتق DNPB - فرمالدهید

پارامترهای کاری HPLC

ضریب همبستگی: ۰٫۹۹۹۹

ستون: فاز معکوس C_{18}

فاز متحرک: ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب

آشکارساز: فرابنفش (UV)، در طول موج ۳۶۰ nm

نرخ جریان: ۱ ml/min

زمان بازداری: حدود ۷ دقیقه برای فرمالدهید

حجم تزریق نمونه: ۲۵ μl

شکل ۶- مثالی از منحنی کالیبراسیون برای فرمالدهید

۴-۳-۹ آنالیز HPLC برای فرمالدهید

سیستم HPLC را راه اندازی کنید و مطابق بند ۳-۳-۹ کالیبره کنید. پارامترهای کاری معمول در ادامه آورده شده‌اند.

مشخص شده است که یک ستون اکتا دسیل سیلان (قطر داخلی ۵ mm ، طول ۱۰۰ mm ، اندازه ذرات ۱۰ μm) با یک فاز متحرک شامل ۷۰٪ کسر حجمی متانول + ۳۰٪ کسر حجمی آب برای به دست آوردن تفکیک پذیری مناسب DNP-H فرمالدهید و ترکیبات مزاحم ممکن مناسب است. برنامه شویس گرادینانی^۱ یا ایزوکراتیک به کار ببرید (استاندارد ISO 16000-4 را ببینید).

به طور جایگزین، فاز متحرک ایزوکراتیک شامل مخلوطی از ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب نیز مناسب است. پارامترها در ادامه آورده شده اند.

ستون C₁₈ (قطر داخلی ۴٫۶ mm ، طول ۲۵ cm ، یا هم ارز آن، در صورت لزوم مجاز است یک گرم خانه ستون برای کنترل بیشتر درستی دما استفاده شود.

فاز متحرک ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب، ایزوکراتیک، حمام با دمای ۴۰ °C

آشکارساز فرابنفش، در طول موج ۳۶۰ nm

نرخ جریان ۱٫۰ ml/min

زمان بازداری ۷ دقیقه برای فرمالدهید با یک ستون C₁₈، ۱۳ دقیقه برای فرمالدهید با دو ستون C₁₈

حجم تزریق نمونه ۲۵ μl

قبل از هر آنالیز، به منظور اطمینان از شرایط پایدار، خط مبنای آشکارساز را بررسی کنید. فاز متحرک HPLC را به وسیله مخلوط کردن ۶۰۰ ml استونیتریل و ۴۰۰ ml آب تهیه کنید یا پارامترهای موثر بر شویس گرادینانی HPLC را به طور مناسب تنظیم کنید. این مخلوط را به وسیله یک صافی غشایی پلی استری ۰٫۲۲ μm در یک دستگاه صاف سازی مکشی از جنس PTFE یا تماما شیشه صاف کنید. فاز متحرک صاف شده را به وسیله تزریق هلیم (بند ۷-۱۱) به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱۵ دقیقه (۱۰۰ ml/min) یا به وسیله گرم کردن تا ۶۰ °C به مدت ۵ دقیقه تا ۱۰ دقیقه در یک ارلن مایر پوشیده شده با یک شیشه ساعت گاززدایی کنید. به منظور حذف بیشتر فاز متحرک گاززدایی شده بهتر است بعد از آشکارساز یک محدودکننده فشار برگشتی در فشار ثابت ۳۵۰ kPa یا لوله ای از جنس PTFE به قطر داخلی ۰٫۲۵ mm و طول کوتاه (۱۵ cm تا ۳۰ cm) قرار دهید.

یادآوری ۱- به جای گاززدایی از فاز متحرک (مخلوط استونیتریل و آب) به وسیله تزریق هلیم یا گرم کردن ، می توان از شیوه هوازدایی مافوق صوت یا هوازدایی پیوسته به وسیله غشا تحت فشار کاهش یافته استفاده نمود.

فاز متحرک را در مخزن حلال HPLC قرار دهید و پمپ را در نرخ جریان ۱ ml/min تنظیم کنید. دمای شویس را روی ۴۰ °C تنظیم کنید. اجازه دهید که فاز متحرک قبل از اولین آنالیز به مدت ۲۰ دقیقه تا ۳۰ دقیقه پمپ شود. خروجی آشکارساز را بر روی یک ثبات نوار کاغذی یا وسیله خروجی مشابه نمایش دهید. برای سیستم های تزریق دستی، حداقل ۱۰۰ μl نمونه را به داخل یک سرنگ تزریق HPLC تمیز بکشید. لوپ HPLC (وضعیت بارگذاری شیر) را با افزایش مقدار اضافی نمونه به وسیله سرنگ پر کنید. جهت شروع

عملیات، شیر را در وضعیت "تزریق" قرار دهید. هم‌زمان با تزریق، سیستم داده را فعال کرده و نقطه تزریق را بر روی ثبات نوار کاغذی علامت‌گذاری کنید. شیر تزریق را بعد از ۱ دقیقه به وضعیت بارگذاری برگردانده و جهت آماده‌سازی برای آنالیز نمونه بعدی، سرنگ و شیر را به‌وسیله ترکیب آب و استونیتریل شستشو دهید و با جریان سریع بشویید.

حلال را نباید در حالی که شیر در وضعیت "تزریق" است به داخل لوپ HPLC تزریق کنید. بعد از شویش مشتق DNPH- فرمالدهید (شکل ۴ را ببینید)، اکتساب داده‌ها را متوقف کرده و غلظت‌های اجزای ترکیب را مطابق بند ۱۰، محاسبه کنید. بعد از این که یک خط مبنای پایدار به‌دست آمد، سیستم را می‌توان همان‌گونه که قبلاً بیان شده، برای آنالیز نمونه دیگری به‌کار برد.

یادآوری ۲- بعد از چند بار آنالیز به‌وسیله کارتریج‌ها، انباشتگی در ستون (در صورت مشاهده، به‌عنوان مثال با افزایش فشار از یک تزریق تا تزریق دیگر در جریان و ترکیب حلال مشخص) را می‌توان با چندین حجم ستون به‌وسیله % ۱۰۰ کسر حجمی استونیتریل شستشو و از بین برد. در صورتی که از پیش‌ستون‌ها استفاده می‌شود محافظت مشابهی می‌توان انجام داد. در صورتی که غلظت آنالیت از گستره خطی دستگاه تجاوز کند، بهتر است نمونه را با فاز متحرک رقیق یا حجم کمتری از نمونه به‌داخل HPLC تزریق کنید. در صورتی که زمان بازداری مشاهده شده در اجراهای قبلی به اندازه % ± 10 تکرار نمی‌شود، مجاز است که نسبت استونیتریل به آب را تا رسیدن به زمان شویش صحیح افزایش یا کاهش داد. اگر زمان شویش خیلی طولانی است افزایش نسبت و اگر زمان شویش خیلی کوتاه است کاهش نسبت باید انجام شود. در صورتی که تغییر حلال لازم است، همیشه قبل از آنالیز نمونه‌ها، کالیبراسیون مجدد (بند ۹-۳-۳ را ببینید) انجام دهید.

یادآوری ۳- شرایط کروماتوگرافی بیان شده در این‌جا به‌منظور تعیین فرمالدهید، بهینه شده است. آزمون‌گرها برای بهینه کردن شرایط کروماتوگرافی جهت نیازهای تجزیه‌ای خاص خود به آزمایش با سیستم HPLC خود توصیه می‌شوند. سیستم‌های HPLC با تزریق خودکار و شروع اکتساب داده نیز می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. کروماتوگرام را به‌منظور وجود مزاحمت ازون مطابق بند ۴-۲ و شکل ۲ بررسی کنید.

۹-۳-۵ آنالیز HPLC کتون‌ها و آلدئیدهای دیگر

۹-۳-۵-۱ کلیات

شرایط کروماتوگرافی که قادر به آنالیز آلدئیدهای دیگر و کتون‌های جمع‌آوری شده از هوا باشد را با استفاده از دو ستون C₁₈ به صورت سری و تغییر ترکیب فاز متحرک از طریق یک برنامه‌گردانی، بهینه کنید. به ویژه شرایط کروماتوگرافی می‌تواند برای جداسازی استون، پروپیون آلدئید و برخی از آلدئیدهای با جرم مولکولی بالاتر در مدت زمان آنالیز حدود ۱ ساعت بهینه شود.

برنامه‌گردانی خطی به‌طور متناوب ترکیب فاز متحرک را به منظور دستیابی به حداکثر تفکیک ناحیه کروماتوگرام C₃، C₄ و بنزآلدئید تغییر می‌دهد. مشخص شده است که برنامه‌گردانی زیر برای دستیابی به این هدف مناسب است:

در زمان تزریق نمونه: گردان خطی در کسر حجمی از % ۶۰ کسر حجمی استونیتریل + % ۴۰ کسر حجمی آب؛

تغییر نسبت به ۷۵٪ کسر حجمی استونیتریل + ۲۵٪ کسر حجمی آب در مدت ۳۶ دقیقه؛
 تغییر نسبت به ۱۰۰٪ کسر حجمی استونیتریل در مدت ۲۰ دقیقه؛
 حفظ شرایط در ۱۰۰٪ استونیتریل به مدت ۵ دقیقه؛
 تغییر گرادیان خطی از ۱۰۰٪ استونیتریل تا ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب در
 مدت ۱ دقیقه؛
 حفظ نسبت ۶۰٪ کسر حجمی استونیتریل + ۴۰٪ کسر حجمی آب به مدت ۱۵ دقیقه.

۹-۳-۵-۲ آنالیز نمونه برای ترکیبات کربونیل دیگر

سیستم HPLC را مطابق بند ۹-۳-۳ نصب و کالیبره کنید. پارامترهای کاری عبارتند از:

ستون C₁₈، دو ستون به صورت سری

فاز متحرک استونیتریل + آب، گرادیان خطی

آشکارساز فرابنفش، در طول موج ۳۶۰ nm

نرخ جریان ۱٫۰ ml/min

برنامه بند ۹-۳-۴ را ببینید.

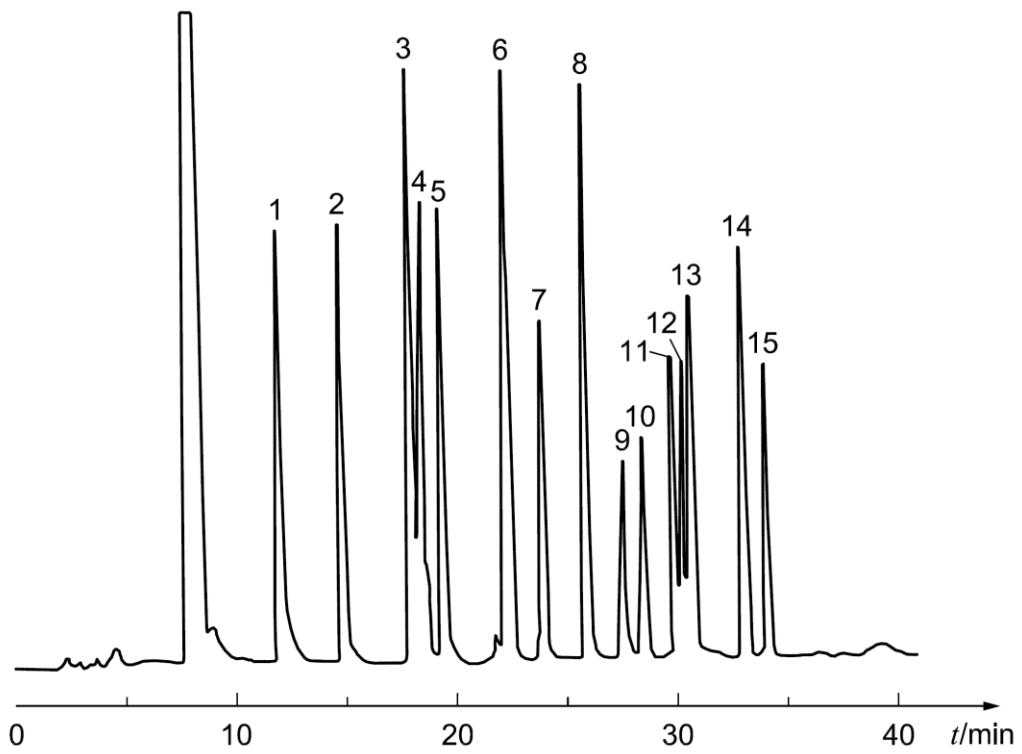
شرایط کروماتوگرافی بیان شده در اینجا برای یک سیستم HPLC گرادیانی مجهز به یک آشکارساز UV یا یک آشکارساز آرایه دیودی، یک نمونه بردار خودکار با یک لوپ تزریق کننده ۲۵ µl و دو ستون C₁₈ (۲۵۰ mm × ۴٫۶ mm) و یک ثابت یا انتگرال گیر الکترونیکی بهینه شده است. آزمون‌گرها به منظور بهینه کردن شرایط کروماتوگرافی جهت نیازهای تجزیه‌ای خاص خود به آزمایش با سیستم HPLC خود توصیه می‌شوند. توصیه می‌شود جداسازی آکرولئین، استون و پروپیون آلدهید کمترین هدف بهینه‌سازی باشد.

یادآوری - سازندگان ستون معمولاً شرایط بهینه برای جداسازی مشتقات DNP با استفاده از ستون‌های فاز معکوس خود را پیشنهاد می‌کنند. این پیشنهادات می‌توانند بدون به خطر افتادن تفکیک ترکیبات کربونیلی، نیاز به ستون‌های دوتایی را مرتفع می‌کنند.

ترکیبات کربونیلی موجود در نمونه با مقایسه زمان‌های بازداری‌شان و سطح زیر پیک‌ها با مشتقات DNP استاندارد آن‌ها شناسایی و به صورت کمی تعیین می‌شوند. فرمالدهید، استالدهید، استون، پروپیون آلدهید، بنزالدهید و اورتو، متا، پارا تولوآلدهیدها را می‌توان با درجه بالایی از اطمینان شناسایی کرد. شناسایی بوتیرآلدهید اطمینان کمتری دارد زیرا این ترکیب به وسیله ایزوبوتیرآلدهید و متیل اتیل کتون تحت شرایط کروماتوگرافی ذکر شده هم‌شوی^۱ می‌شود. با این وجود، آکرولئین و کروتون آلدهید ممکن است به دنبال احتیاط‌های ویژه با درستی قابل قبولی به صورت کمی تعیین شوند. شکل ۷ یک کروماتوگرام نوعی به دست آمده با سیستم HPLC گرادیانی را نشان می‌دهد.

غلظت‌های ترکیبات کربونیلی منحصر به فرد مطابق بند ۹-۳-۴ اندازه‌گیری می‌شوند.

1- coelute



راهنما:

t زمان

شکل ۷- مثالی از جداسازی کروماتوگرافی هیدرازون‌های DNPH حاصل از ۱۵ کربونیل استاندارد

شماره	ترکیب	غلظت µg/ml
1	فرمالدهید	۱,۱۴۰
2	استالدهید	۱,۰۰۰
3	آکروئین	۱,۰۰۰
4	استون	۱,۰۰۰
5	پروپیون آلدهید	۱,۰۰۰
6	کروتین آلدهید	۱,۰۰۰
7	بوتیرآلدهید ^a	۱,۰۰۰
8	بنزآلدهید	۱,۰۰۰
9	ایزو والر آلدهید	۰,۴۵۰
10	والر آلدهید	۰,۴۵۰
11	اورتو تولو آلدهید	۰,۵۱۵
12	متا تولو آلدهید	۰,۵۰۵
13	پارا تولو آلدهید	۰,۵۱۰
14	کاپرون آلدهید	۱,۰۰۰
15	۲ و ۵- دی‌متیل بنزآلدهید	۰,۵۱۰

^a شناسایی بوتیرآلدهید اطمینان کمتری دارد زیرا این ترکیب به همراه ایزوبوتیرآلدهید و متیل اتیل کتون (۲- بوتانون) تحت شرایط کروماتوگرافی ذکر شده هم‌شویب می‌شود. بنابراین در صورتی که این برنامه برای اندازه‌گیری بوتیرآلدهید در حضور یکی از دو ترکیب بالقوه مزاحم اخیر استفاده می‌شود، بهتر است که توجه ویژه‌ای به کار گرفته شود.

شکل ۷- ادامه

۱۰ محاسبات

جرم کل تصحیح شده بر حسب میکروگرم آنالیت (مشتق DNPH) استخراج شده از کارتریج برای هر نمونه، m_d را با استفاده از رابطه ۳ به دست آورید.

$$m_d = m_s - m_b \quad (۳)$$

که در آن:

m_s جرم تصحیح نشده مشتق DNPH بر روی کارتریج نمونه، بر حسب میلی گرم؛

$$m_s = A_s \frac{\gamma_{std}}{A_{std}} V_s d_s \quad (۴)$$

m_b جرم آنالیت در کارتریج شاهد بر حسب میلی گرم می‌باشد.

$$m_b = A_b \frac{\gamma_{std}}{A_{std}} V_b d_b \quad (۵)$$

که در آن:

- A_s سطح زیر پیک، محصول شویش از کارتریج نمونه؛
 A_b سطح زیر پیک، محصول شویش از کارتریج شاهد؛
 A_{std} سطح زیر پیک، استاندارد؛
 γ_{std} غلظت آنالیت در استاندارد کالیبراسیون روزانه، بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر؛
 V_s حجم کل محصول شویش کارتریج نمونه، بر حسب میلی لیتر؛
 V_b حجم کل محصول شویش کارتریج شاهد، بر حسب میلی لیتر؛
 d_s فاکتور رقت برای محصول شویش کارتریج نمونه، در صورتی که نمونه مجدداً رقیق نشده باشد برابر با ۱ می باشد و در صورتی که نمونه به منظور قرار گرفتن پاسخ آشکارساز در محدوده خطی، مجدداً رقیق شود برابر با V_d/V_a است،

که در آن:

- V_d حجم پس از رقیق سازی مجدد، بر حسب میلی لیتر؛
 V_a کسر حجمی مورد استفاده برای رقیق سازی مجدد، بر حسب میلی لیتر؛
 d_b فاکتور رقت برای محصول شویش کارتریج شاهد که برابر با ۱/۰ می باشد.
 غلظت ترکیب کربونیل در نمونه اصلی، γ_A ، بر حسب نانوگرم بر لیتر با استفاده از رابطه ۶ به دست می آید.

$$\gamma_A = m_d \frac{M_c}{M_{der}} \times \frac{1000}{V_m} \quad (6)$$

که در آن:

- V_m حجم کل هوای نمونه تحت شرایط درون ساختمان، بر حسب لیتر، مطابق بند ۹-۱؛
 M_c جرم مولی ترکیب کربونیل (برای فرمالدهید برابر با ۳۰ g/mol)
 M_{der} جرم مولی مشتق DNPH (برای فرمالدهید برابر با ۲۱۰ g/mol)

یادآوری - از قسمت در میلیارد (ppb)^۱ و قسمت در میلیون (ppm)^۲ استفاده نشود. اگر چه اطلاعات زیر برای راحتی کاربردهای خاص در دسترس قرار گرفته است.

برای تبدیل غلظت ترکیب کربونیل، γ_A ، به قسمت در میلیارد (۱۰^{-۹}) به صورت کسر حجمی، از رابطه ۷ استفاده کنید.

$$\varphi_{As} = \frac{\gamma_{As} \times 24.3}{M_c} \quad (7)$$

که در آن:

- φ_{As} غلظت ترکیب کربونیل تحت شرایط استاندارد به صورت کسر حجمی بر حسب قسمت در میلیارد (۱۰^{-۹})

1- parts per billion
2- parts per million

γ_{As} غلظت ترکیب کربونیل در نمونه اصلی بر حسب نانوگرم بر لیتر که با استفاده از تصحیح حجم هوا (V_s) برای دمای 23°C و فشار 101.3 kPa برآورد شده است.

24.3 حجم گاز ایده‌آل تصحیح شده برای دمای 23°C ، بر حسب نانولیتتر می‌باشد.

حجم کل نمونه هوای تصحیح شده برای دمای 23°C و فشار 101.3 kPa (V_s) بر حسب لیتر را با استفاده از رابطه ۸ به دست آورید.

$$V_s = \frac{V_m \bar{P}}{101.3} \times \frac{296.15}{273.15 + T} \quad (8)$$

که در آن:

V_m حجم کل نمونه تحت شرایط درون ساختمان، بر حسب لیتر؛

\bar{P} فشار میانگین درون ساختمان، بر حسب کیلو پاسکال؛

\bar{T} دمای میانگین درون ساختمان، بر حسب درجه سلسیوس می‌باشد.

در صورت به دست آوردن نتیجه غلظت بر حسب قسمت در میلیون (10^{-6}) (دمای 23°C و فشار 101.3 kPa) برای مقایسه با استانداردهای ذکر شده بر حسب این واحد، حجم نمونه برداری شده برای دما و فشار تصحیح نمی‌شود.

۱۱ معیارهای کارایی و تضمین کیفیت

۱-۱۱ کلیات

این بند، اقدامات تضمین کیفیت مورد نیاز و تامین راهنمایی در خصوص معیارهای کارایی که توصیه شده در هر آزمایشگاه رعایت شود را به صورت خلاصه بیان می‌کند. کاربر باید دستورات استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۰۲۵ را پیوست کند.

۱۱-۲ روش کارهای عملیاتی استاندارد (SOPs)^۱

کاربرها باید SOPهایی را تهیه کنند که بیان کننده فعالیت‌های زیر در آزمایشگاه آنها است:

نصب کردن، کالیبراسیون و راه اندازی سیستم نمونه برداری، به همراه عنوان سازنده و مدل تجهیزات استفاده شده؛ آماده سازی، خالص سازی، ذخیره سازی و جابه جایی واکنشگر نمونه برداری و نمونه‌ها؛ نصب کردن، کالیبراسیون و راه اندازی سیستم HPLC، به همراه عنوان سازنده و مدل تجهیزات استفاده شده و تمامی جنبه‌های ثبت و پردازش داده‌ها شامل فهرستی از سخت افزار و نرم افزار رایانه‌های استفاده شده. توصیه می‌شود که SOPها دستورکارهای مرحله به مرحله‌ی ویژه‌ای را ارائه دهند و بهتر است به آسانی برای کارکنانی که در آزمایشگاه بر روی آنها کار می‌کنند در دسترس و قابل فهم باشند. SOPها باید با این استاندارد سازگار باشند.

1-Standard operating procedures

۳-۱۱ کارایی سیستم HPLC

کارایی ستون (بشقابک‌های تئوری)، η ، سیستم HPLC را با استفاده از رابطه ۹ به دست آورید.

$$\eta = 5.54 \left(\frac{t_r}{b_{1/2}} \right)^2 \quad (9)$$

که در آن:

t_r زمان بازداری آنالیت، بر حسب ثانیه؛

$b_{1/2}$ پهنای پیک اجزا در نصف ارتفاع، بر حسب ثانیه می‌باشد.

توصیه می‌شود که کارایی ستون بیشتر از ۵۰۰۰ بشقابک تئوری به دست آید.

ضریب تغییرات (CV) (انحراف استاندارد) پاسخ برای تزریق‌های تکراری HPLC بهتر است برای استانداردهای کالیبراسیون آنالیت در سطح $1 \mu\text{g/ml}$ یا بیشتر، به صورت روزانه، $\pm 10\%$ یا کمتر باشد. دقت آنالیزهای تکراری برای برخی از ترکیبات کربونیلی در سطح $0.5 \mu\text{g/ml}$ و کمتر می‌تواند تا 20% تغییر کند. توصیه می‌شود دقت زمان بازداری برای مقادیری که هر روز به دست می‌آید بهتر از $\pm 7\%$ باشد.

۴-۱۱ هدر رفت نمونه

هدر رفت نمونه می‌تواند زمانی رخ دهد که ظرفیت جاذب بیش از حد باشد یا زمانی که نرخ جریان بیش از حداکثر نرخ سازگار با کل مجموعه باشد. این احتمال می‌تواند با تنظیم کردن دو کارتریج نمونه‌برداری پشت سرهم و آنالیز محتویات هر یک یا آنالیز هر یک از دو قسمت یک کارتریج جاذب دو قسمتی پیشگیری شود. چنانچه مقدار آنالیت جمع‌آوری شده در قسمت پشتیبان از 15% آنالیت جمع‌آوری شده به وسیله قسمت نمونه‌برداری اولیه تجاوز کند، می‌توان فرض کرد که نشتی رخ داده است و ممکن است که صحت نتایج به خطر بیفتد.

۵-۱۱ طرح اندازه‌گیری

طرح اندازه‌گیری باید اقدامات صورت گرفته برای برآوردن الزامات کیفیت مشخص شده به وسیله مشتری را بیان کند.

انجام نمونه‌برداری تکراری توصیه می‌شود. در صورت نیاز، مجاز است برای آنالیز بعدی، یک نمونه یا بیشتر برداشت و نگهداری شود. مقدار نرخ بازیابی‌ها باید ثبت شوند.

معیارهای مهم در نظر گرفته شده برای انتخاب یک پیمان‌کار یا آزمایشگاه برای انجام اندازه‌گیری‌ها بهتر است شامل سوالات زیر باشد.

- آیا آزمایشگاه اندازه‌گیری‌کننده دارای یک سیستم تضمین کیفیت است (به‌عنوان مثال، مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۰۲۵ است)؟
- چه روش کار کالیبراسیونی استفاده شده است، چند وقت یک‌بار و در چه گستره‌ای؟
- کدام روش‌ها برای شناسایی فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر استفاده شده‌اند؟
- آیا اندازه‌گیری‌های تکراری لازم هستند؟

- عدم قطعیت‌ها چگونه تعریف می‌شوند (به‌عنوان مثال مطابق با استاندارد ISO/Guide IEC 98-3 است)؟

- آیا آزمایشگاه در آزمون‌های درون آزمایشگاهی مشارکت می‌کند؟

۱۲ دقت و عدم قطعیت

همانند ترکیبات دیگر، دقت و عدم قطعیت اندازه‌گیری فرمالدهید در هوای درون ساختمان تحت تاثیر دو پارامتر تجدیدپذیری روش کار تجزیه‌ای و تغییرات غلظت آنالیت در هوای در طی زمان است. معقول است فرض کنیم که به‌طور کلی پارامتر دومی دارای اثر بسیار بالاتری از پارامتر اولی است، اگرچه به طور کلی تعیین اثر تغییرات غلظت منبع آلودگی و شرایط تهویه، دشوار است. پیوست الف برخی اطلاعات در زمینه اهمیت خطاهای روش کار تجزیه‌ای را بیان می‌کند.

۱۳ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید حداقل شامل اطلاعات زیر باشد.

۱-۱۳ هدف از اندازه‌گیری‌ها

۲-۱۳ توصیفی از محل نمونه‌برداری

۳-۱۳ زمان و تاریخ نمونه‌برداری

۴-۱۳ شرایط نمونه‌برداری (دما، فشار و رطوبت نسبی)

۵-۱۳ روش آزمون مورد استفاده، مطابق با این استاندارد ملی ایران

۶-۱۳ توصیفی از روش کار نمونه‌برداری

۷-۱۳ یک توصیف کلی از روش کار تجزیه‌ای

۸-۱۳ حدتشخیص روش تجزیه‌ای

۹-۱۳ غلظت ترکیبات شناسایی شده همراه با شماره CAS^۱ آن‌ها و شامل محاسبات و اصول کالیبراسیون مورد استفاده

۱۰-۱۳ همه جزییات مشخص نشده در این استاندارد ملی یا ملاحظات اختیاری، همراه با جزییات هر رویدادی که ممکن است بر روی نتایج آزمون تاثیر بگذارد.

۱۱-۱۳ عدم قطعیت نتایج گزارش شده.

1- Chemical abstracts service

پیوست الف

(اطلاعاتی)

دقت و عدم قطعیت

یک روش کار مشابه به آنچه در این استاندارد بیان شده، ارزیابی شد. بهتر است دقت تجزیه‌ای برای آنالیت با غلظت $1 \mu\text{g/ml}$ یا بیشتر $\pm 10\%$ یا کمتر باشد. دقت آنالیز تکراری برای برخی از ترکیبات کربونیلی در سطح $0.5 \mu\text{g/ml}$ یا کمتر می‌تواند تا 25% تغییر کند.

یک روش مشابه به آنچه در این استاندارد بیان شده است، با استفاده از کارتریج‌های محتوای $55 \mu\text{m}$ تا $105 \mu\text{m}$ سیلیکاژل پوشش داده شده با DNPB از طریق آزمون مشارکتی ارزیابی شد. استفاده از نتایج این ارزیابی‌ها (پایین را ببینید) برای تخمین کارایی این روش برای هوای درون ساختمان مجاز است. این کارتریج‌ها به‌وسیله دو آزمایشگاه مختلف برای بیش از 1500 اندازه‌گیری فرمالدهید و ترکیبات کربونیلی دیگر موجود در هوای محیط به‌وسیله برنامه‌های تحقیقاتی انجام شده در 14 شهر در سراسر USA¹ مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دقت 45 تزریق HPLC تکراری یک محلول ذخیره مشتق DNPB- فرمالدهید در طی یک دوره دو ماهه نشان داده که دارای یک ضریب تغییرات 0.85% است. آنالیز سه باره هر یک از 12 نمونه یکسان از کارتریج‌های در معرض DNPB برای اندازه‌گیری‌های فرمالدهیدی نشان‌دهنده ضریب تغییرات 10.9% بود.

مجموعه‌ای از 16 آزمایشگاه در USA، کانادا و اروپا در یک آزمون مشارکتی که شامل 250 کارتریج DNPB شاهد، سه مجموعه 30 کارتریجی در سه سطح اسپایک شده که به‌وسیله مشتقات DNPB و 13 مجموعه کارتریج‌های در معرض گاز رقیق شده اگزوز اتومبیل، مشارکت داشته‌اند. این کارتریج‌ها به‌وسیله یک آزمایشگاه مرجع و همان نوع بیان شده در بند 4-2 پوشش داده شده بودند. خلاصه‌ای از نتایج آزمون مشارکتی در جدول الف-1 آورده شده است.

یادآوری- در این آزمون مشارکتی هیچ تلاشی برای استانداردسازی آنالیز HPLC انجام نشده است. مشارکت‌کنندگان فرآیند HPLC را همان‌گونه که در آزمایشگاه خود انجام می‌شد به‌کار برده‌اند.

اختلافات درصدی مطلق بین مجموعه نمونه تکراری جفت شده مربوط به برنامه تحقیقاتی 1998 US برای فرمالدهید ($n=405$) 11.8% ، برای استالدهید ($n=386$) 14.5% و برای استون ($n=346$) 16.7% بود. نمونه‌های تکراری جفت شده در این برنامه، جمع‌آوری و به‌وسیله یک آزمایشگاه متفاوت آنالیز شد که یک ضریب تغییرات میانگین 0.07 ، ضریب همبستگی برابر با 0.98 و عدم قطعیت برابر با 0.05 را برای فرمالدهید نشان داد. مقادیر متناظر برای استالدهید 0.12 ، 0.95 و 0.05 و برای استون 0.15 ، 0.95 و 0.54 بود.

1-United States of America

بود. یک آنالیز آزمایشگاهی کارتریج‌های DNPH اسپایک شده تهیه شده طی بیش از یک سال، میانگین عدم قطعیت $\pm 6.2\%$ برای فرمالدهید ($n=14$) و $\pm 13.8\%$ برای استالدهید ($n=13$) را نشان داد. یک آنالیز آزمایشگاهی، 30 کارتریج DNPH اسپایک شده در طی دوره این برنامه، میانگین عدم قطعیت $\pm 1.0\%$ (گسترده $\pm 4.9\%$ تا $\pm 2.8\%$) برای فرمالدهید و $\pm 5.1\%$ (گسترده $\pm 3.8\%$ تا $\pm 3.9\%$) برای استالدهید را نشان داد.

جدول الف-1 - نتایج آزمون مشارکتی

نوع نمونه	فرمالدهید	استالدهید	پروپیون آلدهید	بنزالدهید
کارتریج‌های شاهد				
آلدهید، μg	0.13	0.18	0.12	0.06
CV، %	46	70	47	44
n	33	33	23	8
کارتریج‌های اسپایک شده ^a				
درصد بازیابی (CV%)				
کم	89.0 (6.2)	92.6 (13.8)	106.7 (32.6)	114.7 (36.1)
متوسط	97.2 (3.56)	97.8 (7.98)	100.9 (13.2)	123.5 (10.4)
زیاد	97.5 (2.15)	102.2 (6.93)	100.1 (6.77)	120.0 (8.21)
n	12	13	12	14
نمونه‌های خروجی				
آلدهید، mg	5.93	7.99	0.52	0.29
CV، %	12.6	16.5	26.4	19.4
n	31	32	32	17
یادآوری - شانزده آزمایشگاه شرکت کننده. ارقام بعد از حذف جواب‌های انحرافی ارائه شده است. CV = ضریب تغییرات؛ n = تعداد اندازه‌گیری‌ها				
^a سطوح اسپایک شده کم، متوسط و زیاد تقریباً برابر با $0.5 \mu\text{g}$ ، $5 \mu\text{g}$ و $10 \mu\text{g}$ از استالدهید در هر کارتریج می‌باشد.				

پیوست ب

(اطلاعاتی)

نقطه ذوب مشتقات DNPB - کربونیل

جدول ب-۱ - نقطه ذوب مشتقات DNPB - کربونیل

نقطه ذوب ^a °C	مشتق
۱۵۳ تا ۱۵۲	استالدهید
۱۲۷ تا ۱۲۵	استون
۲۴۲ تا ۲۴۰	بنزآلدهید
۱۲۰ تا ۱۱۹	بوتیرآلدهید
۱۹۲ تا ۱۹۱	کروتون آلدهید
۲۱۹٫۵ تا ۲۱۶٫۵	۲ و ۵-دی‌متیل بنزآلدهید
۱۶۶	فرمالدهید
۱۰۷ تا ۱۰۶	کاپرون آلدهید
۱۲۳٫۵ تا ۱۲۱٫۵	ایزو والر آلدهید
۱۴۵ تا ۱۴۴	پروپیون آلدهید
۱۹۴ تا ۱۹۳	اورتو تولوآلدهید
۲۱۲	متا تولوآلدهید
۲۳۶ تا ۲۳۴	پارا تولوآلدهید
۱۰۸٫۵ تا ۱۰۸	والر آلدهید

^a نقاط ذوب توسط یک آزمایشگاه تایید شده مستقل برای اژانس حفاظت محیطی US تعیین شده است.

پیوست پ

(اطلاعاتی)

کتاب نامہ

- [1] ISO 8655-2, Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Piston pipettes
- [2] ISO 12219-1, Indoor air of road vehicles - Part 1: Whole vehicle test chamber - Specification and method for the determination of volatile organic compounds in cabin interiors
- [3] ISO 12219-2, Indoor air of road vehicles - Part 2: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials - Bag method
- [4] ISO 12219-3, Indoor air of road vehicles - Part 3: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials - Micro-chamber method
- [5] ISO 12219-4, Indoor air of road vehicles - Part 4: Determination of the emissions of volatile organic compounds from car trim components - Small chamber method
- [6] ISO 12219-5, Indoor air of road vehicles - Part 5: Screening method for the determination of emissions of volatile organic compounds (VOC) from car trim components - Static chamber method
- [7] ISO 16017-1, Indoor, ambient and workplace air - Sampling and analysis of volatile organic compounds by sorbent tube/thermal desorption/capillary gas chromatography - Part 1: Pumped sampling
- [8] ISO 16017-2, Indoor, ambient and workplace air - Sampling and analysis of volatile organic compounds by sorbent tube/thermal desorption/capillary gas chromatography - Part 2: Diffusive sampling
- [9] ISO/IEC Guide 98-3, Uncertainty of measurement - Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)
- [10] EN 1232, Workplace atmospheres - Pumps for personal sampling of chemical agents - Requirements and test methods
- [11] ASTM D5197-09e1, Standard test method for determination of formaldehyde and other carbonyl compounds in air (active sampler methodology)

- [12] Compendium Method TO-11A, Determination of formaldehyde in ambient air using adsorbent cartridge followed by high performance liquid chromatography (HPLC) [active sampling methodology]. Cincinnati, OH: US Environmental Protection Agency, 1999. 56 p. (EPA-625/R-96-010b.) Available (viewed 2011-03-16) at: <http://www.epa.gov/ttnamti1/files/ambient/airtox/to-11ar.pdf>
- [13] VDI 3862 Sheet 2, Gaseous emission measurement - Measurement of aliphatic and aromatic aldehydes and ketones by DNPH method - Impinger method
- [14] VDI 3862 Sheet 3, Gaseous emission measurement - Measurement of aliphatic and aromatic aldehydes and ketones by DNPH method - Cartridges method
- [15] Air quality guidelines for Europe, 2nd edition. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2000. 273 p. (WHO Regional Publications: European Series No. 91.) Revised values see: www.who.dk/envhlth/pdf/airqual.pdf. See also: Air quality guidelines. Global update 2005. Particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2006
- [16] TEJADA, S.B. Evaluation of silica gel cartridges coated in situ with acidified 2,4-dinitrophenylhydrazine for sampling aldehydes and ketones in air. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 1986, **26**, pp. 167-185
- [17] GROSJEAN, D. Ambient levels of formaldehyde, acetaldehyde, and formic acid in southern California: Results of a one-year base-line study. *Environ. Sci. Technol.* 1991, **25**, pp. 710-715
- [18] CLARK, W.L., BILLER, W.F., TEJADA, S.B., SIEGL, W.O., ROSENHAMER, D., NEWKIRK, M.S., CROWLEY, R.J. Round robin analysis of alcohol and carbonyl synthetic exhaust samples. *SAE Trans.* 1994, **103**, pp. 1123-1129
- [19] SIRJU, A.P., SHEPSON, P.B. Laboratory and field investigation of the DNPH cartridge technique for the measurement of atmospheric carbonyl compounds. *Environ. Sci. Technol.* 1995, **29**, pp. 384-392
- [20] ARNTS, R.R., TEJADA, S.B. 2,4-Dinitrophenylhydrazine-coated silica gel cartridge method for determination of formaldehyde in air: Identification of an ozone interference. *Environ. Sci. Technol.* 1989, **23**, pp. 1428-1430
- [21] MERRILL, JR. R.G., DAYTON, D-P., O'HARA, P.L., JONGLEUX, R.F. Effects of ozone removal on the measurement of carbonyl compounds in ambient air: Field experience using Method TO-11. In: *Measurement of toxic and related air pollutants*, Vol. 1, pp. 51-60. Pittsburgh, PA: Air & Waste Management Association, 1991 (Publication VIP-21.)
- [22] KLEINDIENST, T.E., CORSE, E.W., BLANCHARD, F.T., LONNEMAN, W.A. Evaluation of the performance of DNPH-coated silica gel and C18 cartridges in the measurement of formaldehyde in the presence and absence of ozone. *Environ. Sci. Technol.* 1998, **32**, pp. 124-130

[23] MCALLISTER, R.A., EPPERSON, D.L., JONGLEUX, R.F. 1989 Urban air toxics monitoring program: Aldehyde results, Research Triangle Park, NC: US Environmental Protection Agency, 1991. 157 p. (USEPA Report No. 450/4-91/006.) Available (viewed 2011-03-16) at: <http://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=2000NEHB.txt>

[24] RADIANT CORP. 1990 Urban air toxics monitoring program: Carbonyl results. Research Triangle Park, NC: US Environmental Protection Agency, 1991. 131 p. (US EPA Report No. 450/4-91/025.) Available (viewed 2011-03-16) at: <http://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=2000NFVF.txt>

[25] HAYNES, W.M., editor. CRC handbook of chemistry and physics, 91st edition. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. 2 610 p.

[26] BECKER, H.G.O., BECKERT, R. Organikum: Organisch-chemisches Grundpraktikum [Organicum: Basic course in organic chemistry], 22nd edition. Weinheim: Wiley-VCH, 2004. 852 p.