

TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

**TCVN 7535: 2005
ISO/TS 17226: 2003**

Xuất bản lần 1

**DA – PHÉP THỬ HOÁ –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALĐEHYT**

*Leather – Chemical tests –
Determination of formaldehyde content*

HÀ NỘI - 2005

Lời nói đầu

TCVN 7535: 2005 hoàn toàn tương đương ISO/TS 17226: 2003.

TCVN 7535: 2005 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC 120 Sản phẩm Da biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

Da – Phép thử hoá – Xác định hàm lượng formaldehyt

Leather – Chemical tests – Determination of formaldehyde content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này gồm hai phương pháp xác định formaldehyt tự do và formaldehyt giải phóng có trong da. Một phương pháp tương đối đơn giản (điều 5), phù hợp với các thiết bị trong phòng thí nghiệm (phương pháp so màu), trong khi phương pháp kia (điều 4) thì cần các thiết bị tinh vi hơn (phương pháp HPLC). Phương pháp thứ hai chọn lọc và không nhạy đối với các chất chiết có màu.

Hàm lượng formaldehyt thu được là lượng formaldehyt có trong nước chiết từ da.

Hai phương pháp phân tích này có thể tương đối giống nhau nhưng không đưa ra kết quả giống nhau tuyệt đối.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

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

TCVN 7115 (ISO 2419), Da Điều hoà mẫu thử để xác định tính chất cơ lý.

TCVN 7117 (ISO 2418), Da Mẫu phòng thí nghiệm Vị trí và nhận dạng.

TCVN 7126: 2002 (ISO 4044: 1977), Da - Chuẩn bị mẫu thử hoá.

TCVN 7535: 2005

3 Chuẩn bị và chuẩn hoá dung dịch formaldehyt gốc

3.1 Thuốc thử

Trừ khi có qui định khác, chỉ sử dụng các hoá chất có cấp độ phân tích. Nước phải được khử khoáng và là nước loại 3 theo TCVN 4851 - 1989 (ISO 3696: 1987). Tất cả các dung dịch là dung dịch nước.

3.1.1 Dung dịch formaldehyt, xấp xỉ 37 %;

3.1.2 Dung dịch iot 0,05 M (nghĩa là 12,68 g iot trên lít);

3.1.3 Natri hydroxít 2 M;

3.1.4 Axít sulfuric 1,5 M;

3.1.5 Dung dịch natri thiosulphat 0,1 M;

3.1.6 Dung dịch hồ tinh bột 1 %, (nghĩa là 100 ml nước có 1g tinh bột).

3.2 Quá trình xác định formaldehyt trong dung dịch gốc

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch formaldehyt (3.1.1) vào bình định mức 1 000 ml có chứa xấp xỉ 100 ml nước đã được khử khoáng và sau đó thêm đầy nước đã khử khoáng cho đến vạch mức. Dung dịch này là dung dịch formaldehyt gốc.

Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch này cho vào bình tam giác 250 ml và trộn với 50 ml dung dịch iot (3.1.2) và cho thêm natri hydroxít (3.1.3) vào cho đến khi hỗn hợp chuyển sang màu vàng. Để dung dịch trong 15 phút \pm 1 phút ở 18 °C đến 26 °C và sau đó vừa khuấy dung dịch vừa đổ thêm 50 ml axít sulfuric (3.1.4).

Sau khi cho thêm 2 ml dung dịch tinh bột (3.1.6), lượng iot còn dư được chuẩn độ bằng natri thiosulphat (3.1.5) cho đến khi đổi màu. Tiến hành ba lần chuẩn độ riêng rẽ. Một dung dịch mẫu trắng cũng được tiến hành chuẩn độ theo cùng cách như trên.

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

C_{FA} là nồng độ dung dịch formaldehyt gốc, tính theo mg/10 ml

V_0 là thể tích dung dịch thiosulphat dùng để chuẩn dung dịch trắng, tính theo ml;

V_1 là thể tích dung dịch thiosulphat dùng để chuẩn mẫu thử, tính theo ml;

M_{FA} là khối lượng phân tử của formaldehyt, 30,08 g/mol;

c_1 là nồng độ của dung dịch thiosulphat, M.

4 Phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao (HPLC)

4.1 Nguyên tắc

Quá trình này có tính chọn lọc. Formaldehyt được tách ra và định lượng như một dẫn xuất của 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 ra formaldehyt tự do.

Mẫu thử được rửa bằng nước ở 40 °C. Nước rửa giải được trộn với 2,4 đinitrophenylhydrazin, khi đó aldehyt và xeton sẽ phản ứng để tạo ra hydrazin tương ứng. Các hydrazin được tách bằng phương pháp HPLC đảo pha, được phát hiện ở bước sóng 350 nm và định lượng.

4.2 Hoá chất

Trừ khi có yêu cầu khác, chỉ sử dụng hoá chất có cấp độ phân tích. Nước phải được khử khoáng và là nước loại 3 theo TCVN 4851 - 89 (ISO 3696: 1987). Tất cả các dung dịch là dung dịch nước.

4.2.1 Natri dodecylsulphonat 0,1 % (chất tẩy rửa), 1g trong 1 000 ml nước;

4.2.2 DNPH 0,3 % (2,4 đinitrophenylhydrazin) trong axit o-phosphoric đặc (85 %). (DNPH được kết tinh lại từ axetonitril 25 % trong nước);

4.2.3 Axetonitril

4.3 Thiết bị và dụng cụ

4.3.1 Phễu lọc có màng lọc sợi thủy tinh, GF8 (hoặc phễu lọc thủy tinh G 3, đường kính từ 70 mm – 100 mm);

4.3.2 Bếp cách thủy, được ổn định nhiệt độ ở 40 °C ± 0,5 °C, phù hợp với thiết bị lắc hoặc khuấy;

4.3.3 Nhiệt kế, chia độ đến 0,1 °C trong khoảng từ 20 °C đến 50 °C;

4.3.4 Hệ thống HPLC với đầu dò UV, ở bước sóng 350 nm;

4.3.5 Màng lọc polyamid, 0,45 µm;

4.3.6 Cân phân tích có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

4.4 Quá trình xác định formaldehyt có trong da

4.4.1 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

Nếu có thể lấy mẫu thử phù hợp với TCVN 7117 (ISO 2418) và nghiền da theo TCVN 7126: 2002 (ISO 4044: 1977) Nếu không thể lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418) (ví dụ da lấy từ sản phẩm đã hoàn tất như giày ủng, quần áo) thì chi tiết của quá trình lấy mẫu phải được ghi trong báo cáo thử nghiệm.

Trước khi cân, điều hoà mẫu thử đã nghiền theo TCVN 7115 (ISO 2419).

TCVN 7535: 2005

4.4.2 Chiết formaldehyt

Cân 2 g \pm 0,1 g da cho vào bình tam giác 100 ml. Thêm 50 ml dung dịch chất tẩy rửa (4.2.1) (đun ấm trước đến 40 °C) và đậy kín bình bằng nút thủy tinh (xem chú thích). Hỗn hợp trong bình được khuấy hoặc lắc nhẹ nhàng ở 40 °C \pm 0,5 °C trên bếp cách thủy (4.3.2) trong 60 phút \pm 2 phút. Dung dịch chiết đã đun ấm được lọc chân không ngay lập tức qua phễu lọc thủy tinh (4.3.1) vào một bình tam giác. Dung dịch lọc để trong bình kín được làm nguội đến nhiệt độ phòng (18 °C đến 26 °C).

CHÚ THÍCH Tỉ lệ da/dung dịch phải không được thay đổi. Việc chiết và phân tích phải được thực hiện trong cùng một ngày.

4.4.3 Phản ứng với DNPH

Dùng pipet lấy 4,0 ml axetonitril (4.2.3), 5,0 ml dung dịch nước rửa giải đã lọc và 0,5 ml dung dịch DNPH (4.2.2) cho vào bình định mức 10 ml. Bình định mức được cho thêm nước đã khử khoáng đầy đến vạch mức và lắc mạnh bằng tay để trộn đều hỗn hợp. Để nguyên bình ít nhất trong 60 phút, nhưng tối đa không quá 180 phút. Sau khi lọc qua màng lọc (4.3.5) mẫu thử được tiến hành chạy sắc ký. Nếu nồng độ của mẫu vượt ngoài khoảng hiệu chuẩn thì lấy một lượng nhỏ hơn. (Nên dùng thử tục thêm chuẩn).

4.4.4 Điều kiện HPLC (khuyến nghị)

Tốc độ dòng	1,0 ml/phút
Pha động	axetonitril/nước, 60 : 40
Cột tách	Merck 100, CH 18,2 (tráng phủ dày, 12 % C) + precolumn (1 cm, RP18)
Bước sóng phát hiện UV	350 nm
Thể tích bơm :	20 μ l

4.4.5 Hiệu chuẩn HPLC

Dùng pipet lấy 0,5 ml dung dịch formaldehyt gốc (3.2) có hàm lượng formaldehyt đã biết chính xác cho vào bình định mức 500 ml, trước đó bình đã có khoảng 100 ml nước, trộn đều, cho thêm nước đến vạch mức, và trộn đều lại. (Nồng độ khoảng 2 μ g formaldehyt/ml).

Dung dịch này là dung dịch chuẩn.

Cho thêm 4 ml axetonitril (4.2.3) vào từng bình trong sáu bình định mức 10 ml, sau đó để tạo dải nồng độ khác nhau cho thêm vào mỗi bình lượng dung dịch chuẩn tương ứng 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 ml. Ngay sau khi thêm dung dịch formaldehyt, mỗi bình phải được trộn đều và bổ sung 0,5 ml dung dịch DNPH (4.2.2). Thêm nước khử khoáng vào bình đến vạch mức và trộn đều. Sau ít nhất 60 phút và tối đa không quá 180 phút, mẫu thử phải được chạy sắc ký sau khi lọc qua màng lọc. Quá trình hiệu chuẩn được thực hiện bằng cách vẽ biểu đồ của diện tích pic thu được với nồng độ tính bằng μ g/10 ml.

4.4.6 Tính toán nồng độ formaldehyt trong mẫu da

$$C_F = \frac{C_S \times F}{E_w}$$

C_F là nồng độ formaldehyt có trong mẫu thử chính xác đến 0,01 mg/kg, tính theo mg/kg;

C_S là nồng độ formaldehyt thu được từ đồ thị hiệu chuẩn tính theo $\mu\text{g}/10\text{ml}$;

F là hệ số pha loãng;

E_w là lượng da đã cân tính theo g.

4.4.7 Tạo mẫu biết trước – Xác định tỉ lệ thu hồi

Cho 4 ml axetonitril vào bình định mức 10 ml sau đó thêm 2,5 ml dung dịch lọc thu được như mô tả trong điều 4.4.2. Sau đó cho thêm một thể tích đã được xác định chính xác của dung dịch formaldehyt chuẩn để thu được dung dịch có nồng độ gần tương đương với dung dịch xác định được trong mẫu thử.

Dung dịch này được xử lý tương tự như mô tả ở 4.4.5 và C_{S2} được xác định tương tự 4.4.3. Tiến hành xác định hai lần và ghi kết quả trung bình và giá trị riêng lẻ trong báo cáo thử nghiệm.

$$RR = \frac{2 \times (C_{S2} - C_S) \times 100}{2 \times C_{FA1}}$$

C_{S2} là nồng độ formaldehyt thu được từ đồ thị hiệu chuẩn tính theo $\mu\text{g}/10\text{ml}$;

C_S là nồng độ formaldehyt trong mẫu thử không pha tính theo $\mu\text{g}/10\text{ml}$;

C_{FA1} là lượng formaldehyt đã pha tính theo $\mu\text{g}/10\text{ml}$;

RR là tỉ lệ thu hồi làm tròn đến 0,1 %, tính bằng phần trăm.

5 Phương pháp so màu

5.1 Phạm vi áp dụng

Hàm lượng formaldehyt thu được là lượng formaldehyt có trong nước chiết từ da ở điều kiện mô tả dưới đây tương ứng với lượng da đem cân.

Quy trình này không chọn lọc hoàn toàn. Chất phát hiện không chỉ có formaldehyt tự do mà còn có cả formaldehyt bị thủy phân trong quá trình chiết để thu formaldehyt tự do.

5.2 Nguyên tắc

Mẫu da được rửa bằng nước ở 40 °C. Nước rửa giải được xử lý với axetylaxeton, nhờ đó formaldehyt phản ứng tạo thành hợp chất màu vàng (3,5 - điaxetyl -1,4 - đihydrotoluidin). Độ hấp thụ của hợp chất này được đo ở bước sóng 412 nm. Lượng formaldehyt tương ứng với giá trị độ hấp thụ của mẫu thử thu được từ đường cong hiệu chuẩn được chuẩn bị trong cùng điều kiện.

TCVN 7535: 2005

5.3 Hoá chất

Trừ khi có yêu cầu khác, chỉ sử dụng hoá chất phân tích tinh khiết. Nước phải được khử khoáng và là nước loại 3 phù hợp với TCVN 4851 - 1989 (ISO 3696: 1987). Tất cả các dung dịch là dung dịch nước.

5.3.1 Natri dodecylsulphonat 0,1 % (chất tẩy rửa), 1g trong 1 000 ml nước;

5.3.2 150 g amoni axetat + 3 ml axit axetic băng + 2 ml axetylaxeton (pentan 2,4 đion, CAS 123- 54-6) trong 1 000 ml nước. Chuẩn bị dung dịch trong ngày và để trong chỗ tối (dung dịch này nhạy với ánh sáng);

5.3.3 150 g amoni axetat + 3 ml axit axetic băng trong 1 000 ml nước;

5.3.4 5 g đimeđon trong 1 000 ml nước (đimeđon = meton = 5,5'-Đimetyl-1,3-cyclohexandion, CAS 126-81-8).

CHÚ THÍCH Đimeđon không thể hoà tan ngay lập tức trong nước tinh khiết. Trong trường hợp này có thể hoà tan đimeđon trong một lượng nhỏ etanol trước, sau đó pha với nước đến thể tích yêu cầu.

5.4 Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị tương tự như trong điều 4.3 nêu trên.

5.4.1 Quang phổ kế có cuvet thích hợp có thể đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm. Nên dùng cuvet có độ dày là 20 mm.

5.5 Chuẩn bị và chuẩn hoá dung dịch formalđehyt gốc

Quá trình tương tự như trong điều 3 nêu trên.

5.6 Cách tiến hành xác định formalđehyt trong da

5.6.1 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

Nếu có thể, lấy mẫu thử phù hợp với TCVN 7117 (ISO 2418) và nghiền da theo TCVN 7126: 2002 (ISO 4044: 1977). Nếu không thể lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418) (ví dụ da lấy từ sản phẩm đã hoàn tất như giày ủng, quần áo) thì chi tiết của quá trình lấy mẫu phải được ghi trong báo cáo thử nghiệm.

Trước khi cân, điều hoà mẫu thử đã nghiền theo TCVN 7115 (ISO 2419)

5.6.2 Chiết formalđehyt

Cân $2 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ mẫu da cho vào bình tam giác 100 ml. Thêm 50 ml dung dịch chất tẩy rửa (5.3.1) (được đun ấm trước đến $40 \text{ }^\circ\text{C}$) và đậy bình bằng nút thuỷ tinh (xem chú thích). Hỗn hợp trong bình được khuấy hoặc lắc nhẹ nhàng ở $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ trên bếp cách thuỷ (4.3.2) trong khoảng 60 phút ± 2 phút. Dung dịch chiết đã đun ấm được lọc chân không ngay lập tức qua phễu lọc thuỷ tinh (4.3.1) vào một bình tam giác. Dung dịch lọc để trong bình kín được làm nguội đến nhiệt độ phòng ($18 \text{ }^\circ\text{C}$ đến $26 \text{ }^\circ\text{C}$).

CHÚ THÍCH Tỷ lệ da/dung dịch phải không được thay đổi. Việc chiết và phân tích phải được thực hiện trong cùng một ngày.

5.6.3 Phản ứng với axetylaxeton

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch vừa thu được theo 5.6.2 cho vào bình tam giác 25 ml và thêm 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2). Đậy kín bình bằng nút thủy tinh. Dung dịch được khuấy trong khoảng thời gian 30 phút \pm 1 phút ở nhiệt độ $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sau khi để nguội (trong bóng tối), đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 412 nm đối chiếu với dung dịch mẫu trắng là hỗn hợp của 5 ml dung dịch chất tẩy rửa (5.3.1) + 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2). Độ hấp thụ đo được ký hiệu là E_p .

Mục đích là xác định kết quả của độ hấp thụ từ màu sắc ban đầu của dung dịch lọc thu được theo 5.6.2, dùng pipet lấy 5 ml dung dịch lọc (5.6.2) cho vào bình tam giác 25 ml và thêm 5 ml dung dịch ở điều 5.3.3. Sau đó tiến hành xác định độ hấp thụ tương tự như với mẫu thử. Độ hấp thụ đo được ký hiệu là E_e .

CHÚ THÍCH Lấy một phần chia nhỏ hơn đối với da có hàm lượng formaldehyt cao ($> 75\text{ mg/kg}$). Đối với các phần chia nhỏ hơn 5 ml cho thêm nước để đạt đến 5 ml.

Ví dụ: hàm lượng formaldehyt: 500 mg/kg

Cách tiến hành: dùng pipet lấy 0,5 ml dung dịch lọc (5.6.2) cho vào bình tam giác 25 ml, thêm 4,5 ml nước. Sau đó tiến hành theo qui trình mô tả ở trên.

5.6.4 Kiểm tra thuốc thử không có formaldehyt

Tiến hành đo hỗn hợp 5 ml dung dịch chất tẩy rửa (5.3.1) + 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2) so sánh với 5 ml dung dịch chất tẩy rửa (5.3.1) + 5 ml nước. Độ hấp thụ đo được không được lớn hơn 0,025 (đo với cuvet 20 mm ở bước sóng 412 nm).

5.6.5 Thử các hợp chất khác có khả năng tạo màu với axetylaxeton

Lấy 5 ml dung dịch lọc thu được theo điều 5.6.2 trộn với 1 ml dung dịch đimedon (5.3.4) và đun ấm đến $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 10 phút \pm 1 phút. Cho thêm 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2) và để hỗn hợp trong 30 phút \pm 1 phút ở nhiệt độ $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Trong lúc để nguội đến nhiệt độ phòng, đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm đối chiếu với dung dịch mẫu trắng, dung dịch này thay cho dung dịch lọc (5.6.2) có chứa 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2). Độ hấp thụ này phải nhỏ hơn 0,05 (đo với cuvet 20 mm) nếu formaldehyt phát hiện có trong mẫu da.

5.6.6 Hiệu chuẩn

Dùng pipet lấy 3 ml dung dịch formaldehyt gốc thu được từ 3.2, đã biết chính xác lượng formaldehyt cho vào bình định mức 1 000 ml đã có 100 ml nước. Trộn đều hỗn hợp và cho thêm nước đầy đến vạch mức và trộn đều lại. Dung dịch này là dung dịch chuẩn dùng để hiệu chuẩn (nghĩa là dung dịch chuẩn khoảng 6 $\mu\text{g/ml}$).

TCVN 7535: 2005

Từ dung dịch này dùng pipét lấy lần lượt 3 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 25 ml dung dịch cho vào các bình định mức 50 ml riêng biệt và cho nước đầy đến vạch. Các dung dịch này có lượng formalđehyt trong khoảng từ 0,4 µg/ml đến 3,0 µg/ml. (Các lượng này tương ứng với nồng độ formalđehyt trong da từ 9 mg/kg đến 75 mg/kg dưới điều kiện đã cho. Đối với nồng độ lớn hơn thì lấy lượng dung dịch chiết ít hơn).

Từ mỗi dung dịch này, dùng pipét lấy 5 ml và trộn với 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2) cho vào bình tam giác 25 ml. Hỗn hợp này được lắc mạnh và đun ấm đến $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $30\text{ phút} \pm 1\text{ phút}$.

Trong lúc để nguội hỗn hợp đến nhiệt độ phòng (tránh ánh sáng) tiến hành chụp phổ ở bước sóng 412 nm cho dung dịch mẫu trắng gồm 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2) và 5 ml nước.

Trước khi đo, đặt máy quang phổ về điểm "0" với dung dịch mẫu trắng (5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2) và 5 ml nước), đã được xử lý dưới cùng điều kiện với dung dịch hiệu chuẩn.

Nồng độ tính theo µg/ml được vẽ vào đồ thị hiệu chuẩn tương ứng với độ hấp thụ đo được, trục x: nồng độ tính bằng µg/ml, trục y: độ hấp thụ.

5.6.7 Tính toán hàm lượng formalđehyt có trong da

$$C_p = \frac{(E_p - E_e) \times V_0 \times V_f}{F \times W \times V_a}$$

C_p là nồng độ formalđehyt có trong mẫu da làm tròn đến 0,1 mg/kg, tính theo mg/kg;

E_p là độ hấp thụ của dung dịch lọc sau khi phản ứng axetylaxeton;

E_e là độ hấp thụ của dung dịch lọc (màu ban đầu);

V_0 là thể tích dung dịch rửa giải (*điều kiện chuẩn: 50 ml*), tính theo ml;

V_a là phần chia từ dung dịch lọc (*điều kiện chuẩn: 5 ml*), tính theo ml;

V_f là thể tích của dung dịch thu được theo 5.6.3 sau khi phản ứng (*điều kiện chuẩn: 10 ml*), tính theo ml;

F là gradient của đường cong hiệu chuẩn (y/x), tính theo ml/µg;

W là khối lượng mẫu da, tính theo g.

5.6.8 Tạo mẫu biết trước và tỉ lệ thu hồi

Dùng pipet lấy 2,5 ml (xem chú thích 1) của dung dịch lọc thu được theo 5.6.2 cho vào hai bình định mức 10 ml. Cho vào một bình định mức một thể tích được xác định chính xác của dung dịch formalđehyt chuẩn để hiệu chuẩn (5.6.6) để đạt đến nồng độ xấp xỉ bằng nồng độ xác định được trong mẫu da (xem chú thích 2). Cả hai bình được làm đầy bằng nước đến vạch mức.

Sau đó chuyển lượng dung dịch trong các bình định mức sang các bình tam giác 25 ml riêng biệt, thêm 5 ml thuốc thử (5.3.2) vào mỗi bình và khuấy trong $30\text{ phút} \pm 1\text{ phút}$ ở $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Sau khi đã được làm nguội (tránh ánh sáng), tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm với dung dịch

mẫu trắng thu được từ 5 ml dung dịch chất tẩy rửa (5.3.1) + 5 ml dung dịch thuốc thử (5.3.2). Độ hấp thụ của mẫu đã biết trước được ký hiệu là E_A . Độ hấp thụ của mẫu không biết trước được ký hiệu là E_p .

CHÚ THÍCH 1 Nếu lượng formaldehyt có trong da nhỏ hơn 20 mg/kg, lấy phần chia 5 ml thay vì 2,5 ml.

CHÚ THÍCH 2 Ví dụ: Nếu lượng formaldehyt có trong da là 30 mg/kg thì pha với 0,5 ml dung dịch formaldehyt chuẩn (5.6.6).

$$RR = \frac{2 \times (E_A - E_p) \times 100}{2 \times E_{zu}}$$

E_A là độ hấp thụ của mẫu đã biết trước;

E_p là độ hấp thụ của mẫu không biết trước;

E_{zu} là độ hấp thụ mong muốn của lượng formaldehyt thêm vào (từ đồ thị hiệu chuẩn);

RR là tỉ lệ thu hồi làm tròn đến 0,1 %, tính theo phần trăm.

Nếu tỉ lệ thu hồi (RR) không nằm trong khoảng 80 % - 120 % thì tiến hành phân tích lại.

6 Biểu thị kết quả

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

7 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- a) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- b) loại, nguồn gốc, mô tả mẫu da phân tích và phương pháp lấy mẫu đã sử dụng;
- c) quy trình phân tích đã sử dụng;
- d) kết quả phân tích về hàm lượng formaldehyt tự do;
- e) bất kỳ sự sai lệch nào so với quy trình phân tích, đặc biệt là các bước thêm vào;
- f) ngày thử nghiệm.

Phụ lục A

(tham khảo)

Độ chính xác**A.1 Độ chính xác của phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao (HPLC)**

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

Mẫu da	Hàm lượng formalđehyt trung bình mg/kg	Độ lặp lại (mg/kg) r	Độ tái lập (mg/kg) R	Tỉ 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

A.2 Độ chính xác của phương pháp so màu

Số liệu sau đây thu được từ liên phòng thí nghiệm với 15 phòng thử nghiệm mẫu da có lượng formalđehyt chưa biết.

Mẫu da	Hàm lượng formalđehyt trung bình mg/kg	Độ lặp lại (mg/kg) r	Độ tái lập (mg/kg) R	Tỉ lệ thu hồi %
A	9,49	1,74	3,86	96
B	19,14	2,23	7,10	94
C	30,41	2,94	8,52	98