

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 1/6
---	----------------------------------	--

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALDEHYDE TRONG RAU, THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SOI MÀU

DETERMINATION OF FORMALDEHYDE IN VEGATABLES AND FOODS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD UV-VIS

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Phạm Thị Kim Cúc	Phạm Thị Kim Cúc	Trần Thái Vũ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
		Thay đổi format SOP	15/01/2018

A. TỔNG QUAN

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 2/6
---	----------------------------------	--

I. Phạm vi áp dụng.

- Tiêu chuẩn này qui định phương pháp để xác định formaldehyde trong thực phẩm.
- Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0.2ppm và giới hạn định lượng 0.6ppm.

II. Tài liệu tham khảo.

- Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: Ref. AOAC 931.08 & 964.21.

III. Nguyên tắc.

- Formaldehyde trong mẫu được chưng cất lôi cuốn hơi nước trong môi trường acid H_3PO_4 . Dung dịch thu được đem đi hiện màu với thuốc thử Nash để xác định nồng độ formaldehyde có trong mẫu.

VI. 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.

B. PHÂN TÍCH

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

- Hệ thống chưng cất lôi cuốn hơi nước.
- Máy soi màu UV-VIS.
- Cân phân tích (0.0001g).
- Ống ly tâm, bình định mức và pipet các loại

II. Hoá chất và chất chuẩn.

1. Hóa chất:

- H_3PO_4
- NH_4CH_3COO
- CH_3COOH
- Aceteylaceton
- Nước cất.

2. Dung dịch hóa chất:

- H_3PO_4 1M: hút 61.6ml H_3PO_4 đđ trong 700ml nước cất và định mức thành 1L dung dịch

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 3/6
---	----------------------------------	--

- Thuốc thử Nash: Hòa tan 150 g $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, 3 mL CH_3COOH , 2 mL acetylacetone trong 1 lít nước cất.

3. Chất chuẩn và dung dịch chất chuẩn:

3.1 Dung dịch chuẩn gốc:

- Cân chính xác khoảng 270mg formaldehyde $\approx 37\%$ cho vào bình định mức 50 mL (ghi lại khối lượng cân), hòa tan và định mức đến vạch bằng nước cất. Ta được dung dịch chuẩn gốc A có nồng độ:
- $C = 270 \times 0.376 / 50 \times 1000 \approx 2000 \text{ (mg/L)}$
- Công thức tổng quát để tính nồng độ chuẩn gốc:

$$C_{\text{stock}}(\text{ppm}) = \frac{m \times \% \text{pure} \times 1000}{V \times 100}$$

- m: khối lượng chất chuẩn, mg
- V: thể tích định mức, mL
- %pure: độ tinh khiết của chất chuẩn

- Ghi lại toàn bộ thông tin pha chuẩn vào sổ nhật ký pha chuẩn
- Bảo quản $< 4^\circ\text{C}$ và sử dụng trong 1 tháng.
- Chuẩn lại nồng độ chính xác của dung dịch A:

Lấy 20ml dung dịch A , thêm 25ml dung dịch Iod 0.05M, thêm 10ml dung dịch NaOH 1M. Để yên trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 15 phút. Thêm 15ml H_2SO_4 1M. Chuẩn độ ngay bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1M bằng chỉ thị hồ tinh bột 1%. Nồng độ HCHO (mg/L) tính theo công thức sau:

$$C_{\text{HCHO}} = \frac{(V_0 - V) \times 15 \times C_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times 1000}{20}$$

Trong đó:

V_0 : thể tích chuẩn độ blank (ml)

V: thể tích chuẩn độ mẫu thực (ml)

III.2 Dung dịch chuẩn trung gian và chuẩn làm việc

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 4/6
---	----------------------------------	--

- o Từ chuẩn 1000ppm tiến hành pha loãng trong nước để được nồng độ chuẩn trung gian là 30ppm: hút 1.5ml từ chuẩn gốc và định mức thành 25ml dung dịch.
- o Pha dãy chuẩn làm việc từ 0 tới 6.0ppm:

Nồng độ dãy chuẩn (mg/l)	0	0.12	0.30	0.60	1.2	3.0	6.0
Thể tích nước deion (ml)	50	50	50	50	50	50	50
Thể tích chất chuẩn 30mg /l (ml)	0	0.2	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0

III. Kiểm soát QA/QC.

Để đảm bảo chất lượng của quá trình phân tích, kiểm nghiệm viên phải thực hiện các công việc sau:

- Vệ sinh thiết bị cất trước khi cất.
- Thực hiện mẫu Blank
- Mẫu Lặp
- Thực hiện mẫu QC.

Thực hiện mẫu Blank, và mẫu QC theo mục IV.

IV. Phân tích mẫu.

1. Bảo quản và chuẩn bị mẫu:

- Mẫu nếu chưa được phân tích thì phải được bảo quản lạnh
- Trước khi phân tích đưa mẫu về nhiệt độ phòng, xay nhuyễn và trộn đều mẫu.

2. Tiến hành phân tích

- Cân khoảng 100 g mẫu đã xay nhuyễn cho vào bình cầu 500 mL, thêm vào 100 mL H_3PO_4 (1M). Lắp bình cầu vào hệ thống chưng cất đơn, *chưng cất lôi cuốn hơi nước* lấy khoảng 200 mL vào bình định mức 200 mL (đã chứa sẵn 10-20 mL nước) (V), định mức đến vạch bằng nước cất. Lọc dịch chưng cất nếu có chất lơ lửng.

Lưu ý: Đầu ra của mẫu phải ngập trong nước để tránh thất thoát formaldehyde.

3. Mẫu trắng:

- Thay dung dịch thử bằng nước cất và tiến hành như mẫu thực.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 5/6
---	--	--

4. Mẫu thêm chuẩn:

- Hút vào 5 mL chuẩn formaldehyde **50** mg/L và thực hiện tương tự như mẫu thực.

5. Hiện màu:

- Rút lấy 5 mL (V) dịch chưng cất cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng thuốc thử Nash. Lên màu ở 37°C trong 30 phút. Sau đó tiến hành đo độ hấp thụ tại bước sóng 415 nm.
- Mẫu trắng (blank): rút 5 mL nước cất cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng thuốc thử Nash và thực hiện tương tự như trên.
- Dựng dãy chuẩn HCHO (nồng độ trong khoảng 0 - 6.0 mg/L): Pha các dung dịch chuẩn tương ứng, rút lấy 5 mL cho vào bình định mức 10 mL, thêm vào thuốc thử Nash cho đến vạch và lên màu tương tự như mẫu.

6. Đo màu

- Sau khi lên màu ở 30°C trong 30 phút. Đường chuẩn và mẫu được đo màu trên thiết bị UV – Vis.
- Đo quang ở bước sóng 415nm.
- Sử dụng Blank nước cất có thêm thuốc thử để cell blank (hoặc Auto Zero).
- Trình tự đo màu:
- Các điểm chuẩn từ thấp đến cao
- Mẫu blank
- Mẫu, mẫu lặp
- Chuẩn check.

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

Dựng đường chuẩn của formaldehyde biểu thị mối quan hệ giữa nồng độ và độ hấp thụ.

- Hàm lượng formaldehyde trong mẫu được xác định theo công thức sau:

$$C(\text{mg/kg}) = \frac{C_0 * V * f}{m}$$

- C: nồng độ formaldehyde trong mẫu, ppm
- C₀: nồng độ formaldehyde theo đường chuẩn, mg/L
- V: thể tích dịch chiết chưng cất, mL.
- f: hệ số pha loãng (nếu có)
- m: khối lượng cân, g

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.161 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 15/01/2018 Trang: 6/6
---	--	--

- 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 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 (≤ 5 mẫu). Hiệu suất thu hồi của mẫu thêm chuẩn phải nằm trong khoảng

Hàm lượng	Độ lệch cho phép, %
10 μ g/Kg	60 – 115
100 μ g/Kg	80 – 110
1mg/Kg	80 – 110
10mg/Kg	80 – 110
100mg/Kg	90 – 107
≥ 1 mg/g	95 – 105
≥ 1 g/g	97 - 103

(phụ lục f AOAC)

- Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu (≤ 5 mẫu). Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá giới hạn cho phép theo phụ lục f AOAC

E. **BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

- ✓ Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu:
 - BM.15.04b
 - BM.15.06