

PHẦN MỞ ĐẦU

Công tác kiểm nghiệm là công tác kiểm soát, theo dõi chất lượng nguyên liệu, bán thành phẩm tại từng công đoạn trong toàn bộ quá trình sản xuất bằng những phương pháp đã qui định (thường đơn giản và mau lẹ) nhằm xác định kịp thời các yếu tố làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm trên dây chuyền sản xuất để báo cho bộ phận điều hành biết và điều chỉnh. Do đó công tác kiểm nghiệm đóng một vai trò rất quan trọng, ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng và sản lượng sản phẩm sản xuất ra cũng như góp phần vào việc bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng.

Trong các công ty, xí nghiệp sản xuất, nhiệm vụ này thường do phòng kiểm nghiệm đảm trách, phòng này có trách nhiệm xác định chất lượng của nguyên liệu, bán thành phẩm và thành phẩm để hỗ trợ, phục vụ cho bộ phận điều hành sản xuất, giúp bộ phận này có thể điều hành, quản lý công nghệ sản xuất một cách kịp thời và có hiệu quả.

Công tác kiểm nghiệm để đánh giá chất lượng sản phẩm phục vụ đời sống con người là một công việc không thể thiếu và càng ngày vai trò vị trí của nó trong xã hội càng được khẳng định. Yêu cầu về năng lực của người làm công tác kiểm nghiệm ngày càng đòi hỏi cao thêm. Trên tinh thần đó, chúng tôi biên soạn quyển Kiểm nghiệm chất lượng thực phẩm bằng phương pháp hóa học này để làm tài liệu học tập, nghiên cứu cho học viên các trường trung học kỹ thuật, trung cấp nghề cũng như những người đang làm các công việc có liên quan đến công tác kiểm nghiệm thực phẩm bằng phương pháp hóa học.

Giáo trình gồm 8 chương:

Chương 1: Phương pháp lấy mẫu kiểm nghiệm.

Chương 2: Phương pháp xác định độ ẩm

Chương 3: Xác định hàm lượng tro và độ kiềm của tro.

Chương 4: Xác định hàm lượng muối ăn.

Chương 5: Xác định độ chua.

Chương 6: Định lượng Protid.

Chương 7: Định lượng Lipid.

Chương 8: Định lượng Glucid.

Nội dung biên soạn theo hình thức kết hợp giữa lý thuyết và thực hành. Trong quá trình biên soạn, nhóm tác giả đã tham khảo các tài liệu liên quan của các trường Đại học, Cao đẳng và các tài liệu khoa học đăng trên các báo.

Mặc dù đã rất cố gắng nhưng chắc chắn không thể tránh khỏi những thiếu sót. Nhóm tác giả rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến của các thầy, cô giáo, các bạn học sinh, sinh viên cùng bạn đọc để giáo trình ngày càng được hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn.

NHÓM TÁC GIẢ

Chương 1

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU KIỂM NGHIỆM

1.1. MỤC ĐÍCH KIỂM NGHIỆM

Kiểm nghiệm hóa học thực phẩm nhằm xác định:

- Thực phẩm có đáp ứng các tiêu chuẩn hóa học về phẩm chất và thành phần dinh dưỡng theo đúng như quy định không.

- Thực phẩm có đáp ứng các tiêu chuẩn hóa học về vệ sinh, có bị ôi thiu, hư hỏng và biến chất thành độc hại hoặc có chứa những chất độc từ dụng cụ bao bì, hóa chất cho thêm vào không.

- Bán thành phẩm tại từng công đoạn trong dây chuyền sản xuất có đạt chất lượng để đưa vào sản xuất tại công đoạn kế tiếp không.

Kiểm nghiệm hóa học thực phẩm chỉ là một khâu trong công tác kiểm nghiệm thực phẩm nói chung, để xác định chính xác phẩm chất và chất lượng thực phẩm, cần phân tích trạng thái cảm quan, vi sinh vật.

1.2. PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU

Lấy mẫu nguyên liệu hoặc sản phẩm thực phẩm để xác định phẩm chất bằng cảm quan và phân tích trong phòng thí nghiệm là khâu đầu tiên và quan trọng trong công tác phân tích. Việc lấy mẫu đúng quy cách sẽ góp phần chính xác cho kết quả kiểm nghiệm và xử lý thực phẩm sau này.

Tùy theo loại nguyên liệu, sản phẩm mà có các quy định về cách lấy mẫu khác nhau, nhưng thông thường người ta chia ra như sau:

- Mẫu thô là một lượng nhỏ mẫu được lấy từ một vị trí của lô hàng.

- Mẫu ban đầu là tổng cộng tất cả các mẫu thô lấy ở các vị trí của lô hàng và trộn đều.

- Mẫu trung bình là một phần của mẫu ban đầu dùng để xác định các chỉ tiêu chất lượng trong phòng thí nghiệm.

1.2.1. Các yêu cầu và phương pháp chung về lấy mẫu:

- Mẫu thực phẩm phải có đủ tính chất đại diện cho cả lô hàng thực phẩm đồng nhất.

- Lô hàng đồng nhất : là lô bao gồm những sản phẩm cùng một tên gọi, cùng một loại phẩm chất và khối lượng, đựng trong bao bì cùng một kiểu, cùng một kích thước, sản xuất trong cùng một ngày hay nhiều ngày (tùy theo sự thỏa thuận giữa người có hàng và người kiểm nghiệm) theo cùng một quy trình công nghệ sản xuất.

- Trước khi lấy mẫu phân tích, phải xem xét lô hàng có đồng nhất không và kiểm tra tình trạng bao bì của lô hàng đó.

- Mẫu hàng lấy để đưa đi kiểm nghiệm phải là mẫu trung bình, nghĩa là sau khi chia thành lô hàng đồng nhất, mẫu sẽ lấy đều ở các góc, ở các phần trên, dưới, giữa lô hàng và trộn đều.

- Tỷ lệ lấy mẫu từ 0,5 đến 1% tùy theo số lượng, nhưng mỗi lần không ít hơn lượng cần thiết để thử.

+ Đối với các thực phẩm lỏng như nước chấm, nước mắm, tương, dầu ăn,... thường được chứa đựng trong bể hoặc thùng to... dùng ống cao su sạch, khô hoặc cắm vào những vị trí trên, dưới, giữa bên cạnh bể hay thùng để hút hoặc khuấy kỹ cho đều trước khi hút.

+ Đối với các nguyên liệu và sản phẩm thực phẩm ở thể rắn như gạo, bột, chè, thuốc lá,... thì lấy đều ở trên, dưới, giữa các bao hoặc các đống ở vị trí trong lô hàng đồng nhất như đã ghi ở trên.

+ Đối với các thực phẩm đóng gói dưới thể đơn vị như hộp, chai, lọ,... mẫu lấy sẽ giữ nguyên bao bì.

+ Sau khi đã lấy xong mẫu trung bình, phải lắc kỹ nếu là thực phẩm lỏng và trộn đều, nếu là thực phẩm đóng gói dưới dạng đơn vị, rồi chia thành mẫu thử trung bình để gửi kiểm nghiệm hóa học, vi sinh vật học, trạng thái cảm quan,...

1.2.2. Nguyên tắc gửi mẫu:

Mẫu thực phẩm gửi kiểm nghiệm, hoặc được giữ trong bao bì ban đầu của nó, hoặc được đóng gói trong những dụng cụ đóng gói không làm ảnh hưởng đến thực phẩm, tốt nhất là trong những chai lọ thủy tinh sạch có nút nhám.

Trường hợp thực phẩm phải gửi đi xa kiểm nghiệm, hoặc có nghi vấn, tranh chấp, phải đóng gói kỹ, phía ngoài dán giấy có đóng dấu lên nút buộc hoặc kẹp dấu xi cẩn thận, tránh mẫu thực phẩm bị đánh tráo.

Thực phẩm dễ bị hư hỏng phải đảm bảo gửi gấp đến nơi kiểm nghiệm trong thời gian thực phẩm còn tốt.

Thực phẩm gửi đến phòng thí nghiệm phải có phiếu yêu cầu kiểm nghiệm kèm theo. Nhãn dán bao gồm:

+ Loại thực phẩm với những lời chỉ dẫn cần thiết như quá trình chế biến, công thức chế biến, nguyên liệu,....

+ Cơ quan hoặc nhà máy sản xuất.

+ Ngày, giờ lấy mẫu, nơi lấy mẫu.

- + Cơ quan lấy mẫu và lý do lấy mẫu.
- + Nơi gửi kiểm nghiệm.
- + Yêu cầu kiểm nghiệm.
- + Biên bản lấy mẫu.

Biên bản gồm có:

- + Tên, họ, cơ quan, người lấy mẫu.
- + Tên, họ, địa chỉ người có mẫu hàng.
- + Ngày giờ lấy mẫu.
- + Lý do lấy mẫu.
- + Loại hàng và lượng hàng lấy mẫu.
- + Loại hàng và lượng mẫu hàng.
- + Những lời chỉ dẫn cần thiết.
- + Chữ ký của hai bên hữu quan.

Chú ý:

+ Trường hợp mẫu hàng đã hỏng, xác định rõ rệt qua trạng thái cảm quan, chỉ lấy mẫu để kiểm nghiệm khi người có hàng không xác nhận tính chất hư hỏng của mẫu hàng.

+ Trường hợp có sự khiếu nại về kết quả kiểm nghiệm, lấy mẫu để kiểm nghiệm lại phải tiến hành kỹ lưỡng hơn, tỷ lệ lấy mẫu phải thận trọng hơn.

+ Mẫu lấy kiểm nghiệm phải giữ lại 40% để làm đối chiếu khi có khiếu nại. Thời hạn lưu mẫu từ 1 tuần đến 3 tháng tùy theo mức độ dễ hỏng của mẫu hàng. Đối với các thực phẩm dễ hỏng như thịt, cá tươi, sữa tươi và chế phẩm tươi của chúng không đặt thành vấn đề giữ mẫu, trừ trường hợp yêu cầu cần thiết phải có chế độ bảo quản riêng.

1.2.3. Cách chuẩn bị mẫu thử:

1. Trường hợp thực phẩm đồng nhất đặc hoặc lỏng:

Trường hợp thực phẩm là một khối to đồng nhất, lấy một phần của mẫu, cắt thái nhỏ, tán nhuyễn (trường hợp thực phẩm đặc) hoặc khuấy thật đều (trường hợp thực phẩm lỏng) để riêng vào lọ kín.

Thực phẩm như thóc, gạo, bột,... Phải trộn kỹ, xay nhuyễn, cho vào lọ có nút nhám để thử dần.

Khi cần mẫu thử để phân tích, phải trộn đều và kỹ.

2. Thực phẩm đặc không đồng nhất:

Lấy phần đại diện của mẫu đại diện rồi cắt thái nhỏ, tán nhuyễn.

3. Thực phẩm đặc lẫn lỏng không đồng nhất:

+ **Phần lỏng tương đối đặc:** như nước sốt, có thể gạn bớt chất lỏng vào một chén sứ, tán nhuyễn phần đặc, trộn lại với phần lỏng trong chén sứ cho tất cả thành một khối đồng nhất. Cho vào lọ hoặc hộp có nắp đậy kín. Nếu không tách được riêng phần lỏng thì cho tất cả vào cối tán nhuyễn.

+ **Phần đặc và lỏng riêng biệt nhau:** kiểm nghiệm chất lỏng và đặc riêng biệt.

Trường hợp kiểm nghiệm các chất có khả năng trao đổi và hòa tan trong chất lỏng thì có thể chỉ kiểm nghiệm chất lỏng, nhưng phải sau một thời gian tối thiểu là 30 ngày kể từ ngày sản xuất.

1.2.4. Các điều cần lưu ý thực hiện khi tiếp nhận mẫu thử:

Thực phẩm khi đến phòng thí nghiệm cần tiến hành những trình tự công tác sau đây:

Kiểm soát bao bì xem có hợp lệ không.

Kiểm soát lại phiếu gửi kiểm nghiệm, biên bản lấy mẫu, nhãn dán, xác định loại thực phẩm...

Xác định yêu cầu kiểm nghiệm.

Vào sổ mẫu hàng với các lời chỉ dẫn cần thiết.

Tiến hành kiểm nghiệm. Trường hợp có nhiều mẫu hàng chưa kiểm nghiệm được ngay một lúc thì phải bảo đảm điều kiện bảo quản như thế nào cho thực phẩm không bị thay đổi cho đến khi kiểm nghiệm.

CÂU HỎI ÔN TẬP

- 1.1. Định nghĩa mẫu thô, mẫu ban đầu, mẫu trung bình.
- 1.2. Định nghĩa lô hàng đồng nhất.
- 1.3. Trình bày yêu cầu và phương pháp lấy mẫu để kiểm nghiệm.
- 1.4. Trình bày nguyên tắc gửi mẫu.
- 1.5. Trình bày cách chuẩn bị mẫu thử.

Chương 2

PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM

2.1. ĐỊNH NGHĨA:

Độ ẩm (còn gọi là thủy phần) là tỷ lệ phần trăm khối lượng nước tự do có trong mẫu. Biết được độ ẩm là một điều cần thiết vì nó ảnh hưởng đến chất lượng và bảo quản. Nếu độ ẩm vượt quá giới hạn cho phép thì chất lượng nó sẽ kém và mau hỏng.

2.2. PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM:

2.2.1. Nguyên lý:

Dùng nhiệt làm bay hơi hết nước trong mẫu. Cân trọng lượng mẫu trước và sau khi sấy khô, từ đó tính ra phần trăm nước có trong mẫu.

2.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Tủ sấy điều chỉnh được nhiệt độ (đến 130°C).
- Cân phân tích chính xác đến 0,0001g (0,1mg).
- Bình hút ẩm, phía dưới để chất hút ẩm (H_2SO_4 đậm đặc, Na_2SO_4 khan, $CaCl_2$ khan,...)
- Cốc cân thủy tinh có đáy bẹt và nắp nhôm kín.
- Đũa thủy tinh một đầu dẹp dài khoảng 5cm.
- Cát bễ sạch.

Cát bễ sạch chuẩn bị như sau:

Đổ cát qua rây có lỗ đường kính 4 – 5mm, rửa qua bằng nước máy, sau đó rửa bằng acid HCl: một phần HCl cho một phần cát (theo thể tích), bằng cách đổ acid vào cát và khuấy. Để qua một đêm, sau đó rửa cát bằng nước máy cho đến khi hết acid (thử bằng giấy quỳ). Rửa bằng nước cất, sấy khô, cho qua rây có lỗ đường kính 1 – 1,5mm để loại bỏ phần cát to rồi đem nung ở lò nung 500 – 600°C để loại chất hữu cơ. Bảo quản cát trong lọ kín để sử dụng.

2.2.3. Cách tiến hành:

Lấy một cốc cân thủy tinh có đựng 10 – 30g cát và một đũa thủy tinh đầu dẹp, đem sấy ở 100 – 105°C cho đến khi khối lượng không đổi. Để nguội trong bình hút ẩm và cân ở cân phân tích chính xác đến 0,0001g. Sau đó cho vào cốc cân khoảng 10g mẫu thử đã chuẩn bị sẵn, nghiền nhỏ. Cân tất cả ở cân phân tích với độ chính xác như trên (mẫu có thể lấy nhiều hơn để độ chính xác cao hơn).

Dùng que thủy tinh trộn đều mẫu với cát. Dàn đều thành một lớp mỏng. Cho tất cả vào tủ sấy $100 - 105^{\circ}\text{C}$, sấy khô cho đến khối lượng không đổi, thường tối thiểu là trong 6 giờ. Trong thời gian sấy, cứ sau một giờ lại dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ các phần vón cục, sau đó lại dàn đều và tiếp tục sấy. Sấy xong, đem làm nguội ở bình hút ẩm (25 – 30 phút) và đem cân ở cân phân tích với độ chính xác như trên.

Cho lại vào tủ sấy $100 - 105^{\circ}\text{C}$ trong 30 phút, lấy ra để nguội ở bình hút ẩm và cân như trên. Làm lại nhiều lần cho đến khi khối lượng cân được không đổi.

2.2.4. Tính kết quả:

Độ ẩm $X_1(\%)$ tính bằng công thức:

$$X_1 = 100 \cdot \frac{G_1 - G_2}{G_1 - G} (\%) \quad (2.1)$$

Trong đó:

G : khối lượng của cốc cân, cát và đũa thủy tinh, g.

G_1 và G_2 : khối lượng của cốc cân, cát, đũa thủy tinh và mẫu thử trước và sau khi sấy, g.

Ghi chú:

Độ ẩm trong phần trình bày trên là độ ẩm theo **cơ sở ướt** tức là phần trăm của khối lượng ẩm (nước) chứa trong toàn bộ mẫu ẩm. Trong một số trường hợp, độ ẩm của mẫu được tính theo **cơ sở khô** tức là phần trăm của khối lượng ẩm (nước) chứa trong toàn bộ mẫu khô.

Độ ẩm theo cơ sở khô $X_2(\%)$ tính bằng công thức:

$$X_2 = 100 \cdot \frac{G_1 - G_2}{G_2 - G} (\%) \quad (2.2)$$

CÂU HỎI ÔN TẬP

2.1. Định nghĩa độ ẩm của một mẫu.

2.2. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả độ ẩm của một mẫu.

Sấy một chén sứ ở 105°C đến khối lượng không đổi, để nguội, cân được $G = 15,3749\text{g}$. Cho mẫu vào chén rồi đem cân, khối lượng cân được $G_1 = 18,3026\text{g}$. Đem chén mẫu sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi, khối lượng cân được $G_2 = 17,7245\text{g}$. Xác định độ ẩm của mẫu này

Chương 3

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO VÀ ĐỘ KIỀM CỦA TRO

3.1. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO

3.1.1. Định nghĩa:

Tro là thành phần còn lại của mẫu sau khi nung cháy hết các chất hữu cơ, tro chỉ gồm các loại muối khoáng có trong mẫu. Do đó tro còn được gọi là tổng số muối khoáng.

Trong trường hợp mẫu có lẫn các chất bản (đất, cát,.....) muốn có độ tro thật sự phải loại trừ đất cát và những chất không phải là muối khoáng mà lại không cháy ở nhiệt độ quy định.

Đối với mẫu có chứa đường, độ tro được biểu thị bằng “độ tro dưới dạng sulfat” (gọi tắt là tro sulfat), muốn có độ tro thật sự hay tổng số muối khoáng, ta lấy tro sulfat nhân với 0,9.

3.1.2. Phương pháp kiểm nghiệm:

1. Hàm lượng tro toàn phần:

a. Nguyên lý:

Dùng sức nóng (550 - 600°C) nung cháy hoàn toàn các chất hữu cơ. Phần còn lại đem cân và tính ra % tro có trong mẫu.

b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Chén nung bằng sứ hoặc bằng kim loại (Nikel hoặc bạch kim).
- Đèn cồn hay bếp điện.
- Lò nung điều chỉnh được nhiệt độ (550 – 600°C).
- Cân phân tích.
- Bình hút ẩm, phía dưới để chất hút ẩm.
- H₂O₂ 10 thể tích hoặc HNO₃ đậm đặc.

c. Cách tiến hành:

Nung chén sứ hoặc chén kim loại đã rửa sạch ở lò nung 550 – 600°C đến khối lượng không đổi. Để nguội ở bình hút ẩm và cân ở cân phân tích.

Cho vào chén khoảng 5g mẫu, cân tất cả ở cân phân tích. Cho vào lò nung và tăng nhiệt độ từ từ cho đến 550 – 600°C. Nung cho đến tro trắng, nghĩa là đã loại hết các chất hữu cơ, thường khoảng từ 6 – 7 giờ.

Trường hợp còn tro đen, lấy ra để nguội, cho thêm 10 giọt H_2O_2 10 thể tích hoặc HNO_3 đậm đặc, nung lại cho đến tro trắng. Để nguội trong bình hút ẩm, sau đó đem cân. Tiếp tục nung thêm ở nhiệt độ trên trong 30 phút rồi để nguội trong bình hút ẩm, đem cân lại cho đến khi khối lượng không đổi.

d. Tính kết quả:

Hàm lượng tro toàn phần $X_1(\%)$ được tính theo công thức:

$$X_1 = 100 \cdot \frac{G_2 - G}{G_1 - G} (\%) \quad (3.1)$$

Trong đó:

G : Khối lượng của chén , g.

G_1 : Khối lượng của chén và mẫu thử , g.

G_2 : Khối lượng của chén & tro trắng sau khi đã nung tới khối lượng không đổi, g.

Chú thích:

Trường hợp mẫu dễ bốc cháy như đường, mỡ,...phải đốt trên đèn cồn hay bếp điện cho đến khi thành than đen không bốc cháy nữa mới cho vào lò nung. Nếu mẫu lỏng, cô khô trên ngọn lửa trước khi nung.

2. Tro dưới dạng sulfat (tro sulfat):

a. Nguyên lý:

Dùng H_2SO_4 để chuyển các chất khoáng của mẫu thành dạng muối sulfat vững bền.

Nung thành tro trắng để loại các chất hữu cơ, cân và từ đó tính ra % tro sulfat. Muốn có tổng số muối khoáng thật sự, ta nhân kết quả tro sulfat với 0,9.

b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Nồi cách thủy.
- Nồi cách cát.
- Lò nung 550 – 600°C.
- Bình hút ẩm.
- Cân phân tích.
- Chén sứ dung tích 60 ml.
- H_2SO_4 1N.

c. Cách tiến hành:

Cân thật chính xác khoảng 5g mẫu bằng một chén sứ dung tích 60 ml đã nung khô để nguội và cân sẵn. Cho 10 ml dung dịch H_2SO_4 1N vào từng giọt một để có thể thấm ướt toàn bộ mẫu. Cô khô ở nồi cách thủy rồi nồi cách cát cho đến khi mẫu thử cháy toàn bộ thành than đen. Tiếp đó cho vào lò nung cho đến khi thành tro trắng. Để nguội trong bình hút ẩm và cân. Làm lại nhiều lần cho tới khi khối lượng cân không đổi.

d. Tính kết quả:

Hàm lượng tro sulfat $X_2(\%)$ được tính theo công thức:

$$X_2 = 100 \cdot \frac{G_2 - G}{P} (\%) \quad (3.2)$$

Trong đó:

G : khối lượng của chén, g

G_2 : khối lượng của chén và tro sulfat, g

P : khối lượng của mẫu thử, g

3. Hàm lượng tro không tan:

a. Nguyên lý:

Hòa tan tro trong dung dịch HCl, sau đó đem lọc. Rửa phần tro không tan nhiều lần bằng nước cất, nung và cân, từ đó tính ra % tro không tan.

Thực chất đây chính là những chất bẩn như đất, cát,... lẫn vào mẫu.

b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Nồi cách thủy.
- Lò nung điều chỉnh nhiệt độ được 550 – 600°C.
- Phễu.
- Bình hút ẩm.
- Chén sứ.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc không tro.
- Dung dịch HCl 4N.
- HNO_3 đậm đặc.
- AgNO_3 0,1N.

c. Cách tiến hành:

Hòa tan tro toàn phần vào 25 ml dung dịch HCl 4N, đun nóng ở nồi cách thủy sôi trong 10 – 15 phút. Thành phần không tan được lọc trên giấy lọc không tro, rửa kỹ với nước cất đun sôi cho đến khi nước lọc không còn chứa Cl⁻ (lấy 2 giọt nước lọc thử với 2 giọt HNO₃ đậm đặc và 1 giọt AgNO₃ 0,1N mà không thấy kết tủa).

Cho giấy lọc và tro không tan trong HCl vào chén sứ đã nung khô, cân sẵn, đem sấy khô toàn bộ trong tủ sấy 100 – 105°C rồi cho vào lò nung 550 – 600°C trong 30 phút. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm và cân.

d. Tính kết quả:

Hàm lượng tro không tan trong HCl (còn gọi là tỷ lệ cát) X₃(%) được tính theo công thức:

$$X_3 = 100 \cdot \frac{G_3 - G}{P} (\%) \quad (3.3)$$

Trong đó:

G : Khối lượng chén nung, g.

G₃ : Khối lượng chén nung và tro không tan trong HCl, g.

P : Khối lượng mẫu thử, g.

3.2. ĐỘ KIỀM CỦA TRO:

3.2.1. Định nghĩa:

Độ kiềm của tro là số ml dung dịch kiềm 1N (hay số mili đương lượng gam kiềm) tương đương với lượng kiềm trong tro của 100g mẫu.

3.2.2. Xác định độ kiềm của tro:

1. Nguyên lý:

Cho một lượng acid thừa để trung hòa độ kiềm của tro và chuẩn độ acid thừa bằng một dung dịch kiềm chuẩn.

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Nồi cách thủy.
- Erlen dung tích 100 – 150 ml.
- Burette.
- Nước cất.
- H₂SO₄ 0,5N.

- NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

3. Cách tiến hành:

Hòa tan tro toàn phần trong chén nung bằng 20 ml dung dịch H₂SO₄ 0,5N. Đun nóng trên nồi cách thủy sôi 10 – 15 phút, chuyển dung dịch vào erlen. Rửa sạch chén nung nhiều lần với nước cất cho đến khi nước rửa không còn phản ứng acid với giấy quỳ. Nước rửa tập trung hết vào erlen, để nguội, cho thêm vài giọt phenolphthalein và chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt. Đọc thể tích V_B sử dụng.

4. Tính kết quả:

Độ kiềm của tro X₄(%) được tính theo công thức:

$$X_4 = 100 \cdot \frac{N_A \cdot V_A - N_B \cdot V_B}{P} (\%) \quad (3.4)$$

Trong đó:

N_A , V_A : nồng độ đương lượng và thể tích acid (ml) đã sử dụng.

N_B , V_B : nồng độ đương lượng và thể tích kiềm (ml) đã sử dụng để chuẩn độ.

P : Khối lượng mẫu thử, g.

CÂU HỎI ÔN TẬP

3.1. Định nghĩa tro của một mẫu.

3.2. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả hàm lượng tro toàn phần của một mẫu.

Lấy 5,0000g mẫu đem nung cháy hoàn toàn ở 600°C, để nguội, đem cân lại còn 0,1000g. Xác định hàm lượng tro trong mẫu này

3.3. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả hàm lượng tro sulfat của một mẫu.

3.4. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả hàm lượng tro không tan của một mẫu.

3.5. Định nghĩa độ kiềm của tro .

3.6. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả độ kiềm của tro.

3.7. Cân 10,0000g mẫu bằng một chén sứ có khối lượng 12,1254g, đem sấy khô rồi nung ở 600°C cho đến khi thành tro trắng, xong để nguội rồi cân lại, khối lượng chén và tro là 12,6543g. Hòa tan tro này trong 50ml dung dịch HCl 0,05N. Sau đó chuẩn độ dung dịch này bằng NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 15ml. Xác định:

a. Hàm lượng tro toàn phần của mẫu.

b. Độ kiềm của tro của mẫu.

3.8. Dùng một chén sứ có khối lượng 15,4254g để cân một mẫu thực phẩm cần xác định độ tro, khối lượng cân được là 21,4959g. Dem cốc mẫu sấy khô rồi nung ở 600°C cho đến khi thành tro trắng, xong để nguội rồi cân lại, khối lượng chén và tro là 15,4943g. Hòa tan tro này trong 50ml dung dịch HCl 0,05N. Sau đó chuẩn độ dung dịch này bằng NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 24ml. Xác định:

a. Hàm lượng tro toàn phần của mẫu.

b. Độ kiềm của tro của mẫu.

Chương 4

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MUỐI ĂN (NaCl)

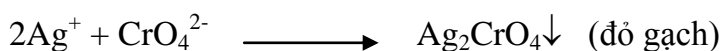
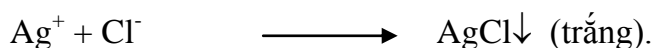
NaCl hay muối ăn có dưới thể tự nhiên trong thức ăn hoặc được cho thêm vào với mục đích gia vị hay bảo quản. Dù ở dưới thể tự nhiên hay cho thêm vào, muối ăn cũng là một thành phần của chất khoáng trong thực phẩm, hay nói rộng rãi hơn, là một thành phần của tro.

4.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ PHƯƠNG PHÁP MOHR:

4.1.1. Nguyên tắc:

Nguyên tắc của phương pháp này là thêm vào dung dịch định phân một ion gọi là ion chỉ thị, có khả năng tạo với ion Ag^+ một kết tủa màu đậm ở điểm cuối chuẩn độ. Khi chuẩn độ Cl^- và Br^- , Mohr đề nghị ion chỉ thị là CrO_4^{2-} , ion này tạo với Ag^+ kết tủa màu đỏ gạch. Phản ứng được tiến hành trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu ($\text{pH} = 6,5 - 10,5$). Phương pháp này không dùng cho I^- và SCN^- vì hiện tượng hấp phụ quá rõ rệt.

Các phản ứng xảy ra:



Khi xuất hiện màu đỏ gạch thì ta dừng sự chuẩn độ lại.

Dựa vào nồng độ và thể tích của dung dịch AgNO_3 dùng, người ta tính hàm lượng của X^- trong mẫu.

4.1.2. Lượng dùng chất chỉ thị K_2CrO_4 :

Dựa vào tích số tan ta thấy muốn có kết tủa Ag_2CrO_4 tại điểm tương đương (điểm cần kết thúc) thì nồng độ $[\text{CrO}_4^{2-}] = 2 \cdot 10^{-2}$ iong/l.

Nhưng trong thực tế, người ta thường dùng với nồng độ $5 \cdot 10^{-3}$ iong/l vì với nồng độ $2 \cdot 10^{-2}$ M, màu Cromat trong dung dịch quá đậm, khó quan sát màu của kết tủa Ag_2CrO_4 .

4.1.3. Độ acid của môi trường:

Tiến hành định phân trong môi trường có $\text{pH} = 6,5 - 10,5$ (tránh kiềm mạnh vì sinh thêm Ag_2O , nếu môi trường acid thì kết tủa Ag_2CrO_4 dễ bị tan do đây là muối của acid yếu H_2CrO_2))

Nếu dung dịch có độ acid cao thì dùng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ hay NaHCO_3 để trung hòa.

4.1.4. Tránh hiện tượng kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm:

Do ion Cl^- bị hấp phụ bởi kết tủa AgCl nên để tránh hiện tượng kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm thì cần lắc mạnh trong quá trình chuẩn độ, đặc biệt là lúc cuối.

Do màu của chất chỉ thị và màu của kết tủa Ag_2CrO_4 không khác nhau nhiều nên cần phải hết sức chú ý khi chuẩn độ để phát hiện kịp thời khi kết tủa Ag_2CrO_4 vừa xuất hiện.

4.2. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NaCl :

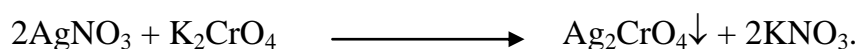
Phương pháp định lượng trực tiếp (phương pháp Mohr):

4.2.1. Nguyên lý:

Áp dụng phản ứng:



Cho dung dịch chuẩn AgNO_3 vào dung dịch trung tính có chứa NaCl , phản ứng trên sẽ xảy ra. Khi NaCl trong dung dịch đã kết hợp hết với AgNO_3 , một giọt AgNO_3 thừa sẽ kết hợp với K_2CrO_4 (dùng làm chỉ thị màu) cho Ag_2CrO_4 màu đỏ gạch (phản ứng đã kết thúc).



Từ lượng AgNO_3 dùng ta có thể tính ra hàm lượng NaCl trong 100g thực phẩm.

4.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Erlen dung tích 200 – 250 ml
- Bình định mức dung tích 100 ml.
- Phễu.
- Burette.
- Pipette có bầu 10 ml, một hoặc hai vạch.
- Giấy lọc.
- Dung dịch AgNO_3 0,1N.
- CaCO_3 .
- HNO_3 loãng.
- K_2CrO_4 10% trong nước trung tính.
- Dung dịch NaHCO_3 0,01N và dung dịch acid acêtic 0,01N.

- Dung dịch phenolphthalein 1% và dung dịch paranitrophenol 0,05%

4.2.3. Chuẩn bị mẫu thử:

Tùy theo loại thực phẩm có nhiều muối hay ít, mà định cách pha loãng:

- Đối với thực phẩm lỏng, lấy N ml pha loãng. Kết quả tính ra NaCl g/l.

- Đối với thực phẩm đặc: cắt nhỏ hay xay nhỏ, lắc với nước từ 1 đến 2 giờ. Lọc và chuẩn độ. Kết quả tính ra NaCl g/100g.

- Đối với thực phẩm khó chiết xuất, thì nung thành tro trắng, hòa tan trong nước cất và chuẩn độ.

- Trường hợp những dung dịch đục (như sữa) khử tạp bằng dung dịch chì acêtat kiềm, lọc và chuẩn độ dịch lọc.

4.2.4. Cách tiến hành:

Sau khi đã chuẩn bị mẫu thử, cho vào bình định mức với nước cất gần đủ 100 ml. Kiểm tra lại xem dung dịch có trung tính không, nếu không phải trung hòa. Sau đó cho nước cất vừa đủ 100 ml.

Lấy 10 ml cho vào erlen với 3 giọt K_2CrO_4 . Chuẩn độ từ từ (nhỏ từng giọt một) dung dịch $AgNO_3$ 0,1N cho đến khi xuất hiện màu đỏ gạch bền vững.

4.2.5. Tính kết quả:

Hàm lượng muối ăn NaCl theo phần trăm tính bằng công thức:

$$X = 100 \cdot \frac{58,5 \cdot C_N \cdot V}{1000 \cdot P} \cdot \frac{V_{dm}}{V_{cd}} (\%) \quad (4.1)$$

Trong đó:

58,5 : Phân tử lượng của NaCl.

C_N : Nồng độ đương lượng của dung dịch $AgNO_3$.

V : Thể tích dung dịch $AgNO_3$ dùng trong chuẩn độ, ml.

P : Khối lượng mẫu, g.

V_{dm} : Thể tích dung dịch mẫu pha trong bình định mức, ml.

V_{cd} : Thể tích dung dịch mẫu lấy đi chuẩn độ, ml.

Chú thích:

- Dung dịch thử không được chứa các halogenur (F^- , Br^- , I^-), Ba^{2+} và Sr^{2+} vì K_2CrO_4 cũng cho tủa màu với các muối này.

- Dung dịch thử và dung dịch chuẩn AgNO_3 phải trung tính vì Ag_2CrO_4 tan trong môi trường acid và kiềm. Do đó phải thử bằng giấy quỳ trước khi chuẩn độ. Nếu dịch thử acid thì cho CaCO_3 kết tinh hoặc dung dịch NaHCO_3 0,01N với chỉ thị màu phenolphthalêin cho đến khi có phản ứng trung tính. Nếu dung dịch kiềm cho HNO_3 loãng từng giọt hoặc dung dịch acid acêtic 0,01N với chỉ thị màu paranitrophênil 0,05% cho đến khi acid nhẹ rồi trung hòa lại bằng CaCO_3 .

- Phải làm ở nhiệt độ thường, vì Ag_2CrO_4 hơi tan khi nóng.

- Phải tránh ánh sáng mặt trời mạnh để khỏi bị đen (do Ag_2CrO_4 bị khử thành Ag)

CÂU HỎI ÔN TẬP

4.1. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả của phương pháp Mohr khi xác định hàm lượng NaCl của một mẫu thực phẩm.

4.2. Trình bày phương pháp Mohr dùng trong chuẩn độ kết tủa:

- a. Nguyên tắc (bản chất) của phương pháp.
- b. Lượng dùng của chất chỉ thị
- c. Độ acid (pH) của môi trường chuẩn độ.
- d. Các điều cần lưu ý khi chuẩn độ.

4.3. Để xác định hàm lượng NaCl trong một mẫu nước, người ta lấy 10 ml mẫu nước này đem chuẩn độ bằng dung dịch AgNO_3 0,05N thì tiêu tốn hết 1,5 ml. Xác định hàm lượng muối NaCl có trong mẫu nước (Tính theo đơn vị mg NaCl/lít mẫu).

Chương 5

XÁC ĐỊNH ĐỘ CHUA (ĐỘ ACID)

5.1. XÁC ĐỊNH ĐỘ ACID TOÀN PHẦN (acid chung):

Độ acid toàn phần bao gồm tất cả các acid có thể định lượng được bằng một dung dịch kiềm chuẩn. Những acid này chủ yếu là các acid hữu cơ như acid acêtic, lactic, citric, tartric,.....Các acid carbonic và SO_2 dưới thể tự do hay kết hợp, đều không tính chung độ chua của thực phẩm. Do đó những thực phẩm như bia, nước ngọt,... có chứa CO_2 hoặc SO_2 đều được loại trừ trước khi chuẩn độ để xác định độ chua.

Chất chỉ thị màu có thể dùng phenolphtalein (pH chuyển màu 8,2), bromotymol xanh, metil đỏ (pH gần 7).

5.1.1. Nguyên lý:

Dùng một dung dịch kiềm chuẩn (NaOH hoặc KOH) để trung hòa hết các acid trong thực phẩm, với phenolphtalein làm chỉ thị màu.

5.1.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Dung dịch NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Dung dịch phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

5.1.3. Cách tiến hành:

1. Chuẩn bị mẫu thử:

Cân thật chính xác khoảng 10g thực phẩm. Nghiền nhỏ, lãc với nước trung tính trong 1 giờ. Sau đó cho thêm nước trung tính vừa đủ 50 ml. Để lắng, lấy 25 ml nước trong ở trên để định lượng.

Nếu thực phẩm là chất lỏng, lấy V ml và định lượng thẳng. Nếu thực phẩm có màu sẫm, có thể pha loãng với nước trung tính hoặc cồn trung tính để dễ nhận điểm chuyển màu. Cũng có thể dùng giấy quỳ hoặc giấy chỉ thị màu vạn năng làm chỉ thị màu.

2. Định lượng:

Cho vào erlen:

- Dịch thử 25 ml
- Dung dịch phenolphtalein 2 – 4 giọt.

Nhỏ NaOH 0,1 N từ buret xuống cho đến khi dịch thử có màu hồng nhạt bền vững.

5.1.4. Tính kết quả:

Độ acid toàn phần theo phần trăm (X_1) tính bằng công thức:

$$X_1 = K \cdot V_B \cdot N_B \frac{V_1}{V_2} \cdot \frac{100}{P} (\%) \quad (5.1)$$

Trong đó:

V_B , N_B : thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

V_1 : thể tích dung dịch mẫu sau khi pha, ml

V_2 : thể tích dung dịch mẫu lấy đi chuẩn độ, ml

P : khối lượng mẫu thử, g

K : hệ số của loại acid.

Tùy theo loại thực phẩm, kết quả sẽ biểu thị bằng một số loại acid sau, như:

- Với sữa, kết quả sẽ biểu thị bằng acid lactic $K = 0,09$
- Với các thực phẩm lên men chua : acid lactic $K = 0,09$
: acid acêtic $K = 0,06$
- Với các loại hoa quả tươi : acid citric $K = 0,064$
: acid tarttric $K = 0,075$
: acid malic $K = 0,067$
- Với dầu mỡ : acid Oleic $K = 0,282$

Độ acid toàn phần cũng có thể biểu thị bằng:

+ Độ chua : là số ml NaOH 1N (số mđlg NaOH) dùng để trung hòa 100g thực phẩm.

+ Chỉ số độ chua : là số mg KOH dùng để trung hòa 1g thực phẩm.

5.2. XÁC ĐỊNH ĐỘ ACID DỄ BAY HƠI:

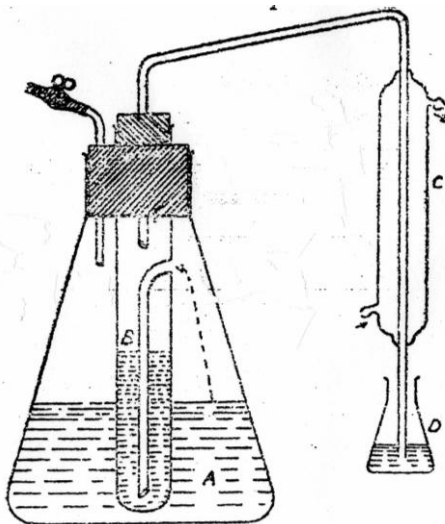
Độ acid dễ bay hơi bao gồm acid thuộc nhóm acid acêtic ($H-COOH$, CH_3COOH , C_2H_5COOH , C_3H_7COOH) ở dưới dạng tự do hoặc dưới dạng muối. Không tính vào độ acid dễ bay hơi các acid lactic, succinic, CO_2 , SO_2 .

5.2.1. Nguyên lý:

Dùng một nguồn hơi nước nóng đi qua thực phẩm, kéo các acid bay hơi, khi gặp lạnh các acid này ngưng tụ lại, chảy vào một cốc thủy tinh và được chuẩn độ bằng một dung dịch kiềm với phenolphtalein làm chỉ thị màu.

5.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Dụng cụ cất acid dễ bay hơi bằng hơi nước (hình vẽ)



Hình 5.1: Dụng cụ cất các acid dễ bay hơi (kiểu đơn giản)

- A. Bình cấp hơi nước B. Bình đựng mẫu cần kiểm nghiệm
C. Ống sinh hàn D. Bình hứng (bình chuẩn độ)

Để rửa toàn bộ thiết bị, trước khi cho mẫu thử vào để định lượng, chưa nên cho nước lạnh chảy vào ống sinh hàn, mà cho một luồng hơi nước thật mạnh chạy qua. Sau đó ngừng cho hơi nước vào thiết bị và bắt đầu cho mẫu vào bình chứa mẫu D, cho nước lạnh vào ống sinh hàn rồi tiến hành cất acid dễ bay hơi.

- NaOH 0,1N.
- Phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

5.2.3. Cách tiến hành:

Cân thật chính xác 10 – 20g chất thử, cho vào bình D với nước cất trung tính đến khoảng 50 ml.

Cho hơi nước sục vào bình D và đun nhẹ bình D để hơi nước khởi ngưng đọng. Cất cho đến khi hứng được khoảng 300ml. Dung dịch cất đun đến vừa sôi để cho bay hết CO₂, cho thêm 5 giọt Phenolphtalein và chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N.

5.2.4. Tính kết quả:

Độ acid dễ bay hơi theo phần trăm (X_2) biểu thị bằng acid acêtic tính bằng công thức:

$$X_2 = 0,06.V_B.N_B \cdot \frac{100}{P} (\%) \quad (5.2)$$

Trong đó:

V_B , N_B : thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

P : khối lượng mẫu thử, g

Ghi chú:

1. Loại bỏ CO_2 như sau:

Trước hết cất kéo hơi nước để định lượng acid bay hơi, loại bỏ CO_2 bằng cách cho bay hơi ở chân không (dùng vòi phun tia nước hút chân không).

2. Loại bỏ SO_2 như sau:

Sau khi định lượng acid trong dịch cất bằng NaOH 0,1N với PP làm chất chỉ thị màu, cho thêm vào dịch cất 1 giọt HCl tinh khiết, 2ml hồ tinh bột, một hạt tinh thể KI và chuẩn độ SO_2 tự do bằng dung dịch Iod 0,01N. Cho thêm 28 ml natri borat bão hòa, dung dịch chuyển thành màu hồng nhạt, chuẩn độ SO_2 kết hợp bằng dung dịch Iod 0,01N cho đến màu xanh với hồ tinh bột.

Kết quả:

Số ml NaOH 0,1N thực tế dùng để định lượng acid bay hơi:

$$N(ml) = \left(n - \frac{n'}{10} - \frac{n''}{10} \right) \quad (5.3)$$

Trong đó:

n : số ml NaOH 0,1N sử dụng để định lượng acid trong dịch cất.

n' : số ml iod 0,01N sử dụng để định lượng SO_2 tự do.

n'' : số ml iod 0,01N sử dụng để định lượng SO_2 kết hợp.

3. Có thể tính độ acid dễ bay hơi bằng cách tính:

Độ acid dễ bay hơi = độ acid toàn phần – độ acid cố định.

5.3. XÁC ĐỊNH ĐỘ ACID CỐ ĐỊNH:

5.3.1. Nguyên lý:

Độ acid cố định bao gồm tất cả các acid không bay hơi. Sau khi cô đến cạn thực phẩm ở nồi cách thủy sôi để các acid dễ bay hơi bốc hết, hòa tan cạn vào nước cất trung tính và chuẩn độ bằng một dung dịch kiềm chuẩn với Phenolphthalein làm chỉ thị màu.

5.3.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Dung dịch Phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

5.3.3. Cách tiến hành:

Cho vào chén sứ hoặc chén thủy tinh 10 ml thực phẩm lỏng (hoặc 10g thực phẩm sền sệt). Để trên nồi cách thủy đun sôi, thỉnh thoảng lại khuấy, cho đến cạn. Hòa tan cạn vào nước cất trung tính, chuyển vào erlen, rửa sạch chén 2 – 3 lần với nước cất trung tính và dồn tất cả nước rửa vào erlen. Chuẩn độ bằng NaOH 0,1N với PP làm chất chỉ thị màu.

5.3.4. Tính kết quả:

Độ acid cố định trong 100 ml hoặc 100g thực phẩm (X_3) tính bằng công thức:

$$X_3 = K \cdot N_B \cdot V_B \cdot \frac{100}{P} (\%) \quad (5.4)$$

Trong đó:

K : hệ số để tính ra loại acid (xem lại phần xác định độ acid toàn phần)

N_B : nồng độ đương lượng của dung dịch NaOH sử dụng.

V_B : thể tích dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ, ml.

Có thể tính độ acid cố định theo công thức sau đây:

$$X_3 = K \cdot N_B \cdot (V_B - V'_B) \cdot \frac{100}{P} (\%) \quad (5.5)$$

Trong đó:

V_B : Số ml NaOH có nồng độ N_B sử dụng để định lượng độ acid toàn phần trong 100g hoặc 100 ml mẫu thử.

V'_B : Số ml NaOH có nồng độ N_B sử dụng để định lượng độ acid dễ bay hơi trong 100g hoặc 100 ml mẫu thử.

5.4. ĐỘ ACID TỰ DO CỦA DẦU MỠ:

5.4.1. Nguyên lý:

+ Độ acid tự do của dầu mỡ theo phần trăm (X_4) được tính theo công thức:

$$X_4 = K.V_B.N_B \frac{100}{P} \quad (\%) \quad (5.6)$$

Trong đó:

K : hệ số để tính ra các loại acid béo. Nếu là dầu cọ, độ acid biểu thị bằng acid palmitic ($K = 0,256$), nếu là các loại dầu mỡ khác, bằng acid oleic ($K = 0,282$)

V_B : số ml KOH sử dụng để chuẩn độ mẫu thử.

N_B : nồng độ đương lượng của KOH sử dụng.

P : khối lượng mẫu thử , g.

+ Chỉ số độ chua I_a (số mg KOH dùng để trung hòa 1g dầu mỡ) tính bằng công thức:

$$I_a = \frac{56,11.V_B.N_B}{P} \quad (5.7)$$

Trong đó:

56,11 : đương lượng gam của KOH.

Chú thích:

Nếu trường hợp chất béo có nước, kết quả phải tính trên chất khô, nghĩa là nhân với 100 và chia cho 100 trừ phần trăm nước.

5.5. ĐỊNH TÍNH CÁC ACID VÔ CƠ (đặc biệt cho dấm):

5.5.1. Nguyên lý:

Dấm với độ acid toàn phần, tính ra acid tối đa là 6g/100ml , có $pH > 2$. Nếu cho thêm acid vô cơ (HCl , H_2SO_4, \dots) vào dấm (với mục đích gian dối) làm tăng độ acid của dấm thì pH hạ xuống dưới 2 có thể xác định bằng chỉ thị màu. Thí dụ: chỉ thị màu metyl tím chuẩn từ màu tím ($pH > 3,2$) sang xanh lơ hoặc xanh lục ($pH < 2$). Nếu dấm có màu, khử màu bằng Kaolin trước. Có thể xác định bằng pH mét.

5.5.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Kaolin sạch.

Rửa kaolin với nước cất sôi, kiểm tra nước rửa cho đến khi trung tính với giấy chỉ thị màu vạn năng.

- Dung dịch acid acêtic 4%.

Cân thật chính xác 4g CH_3COOH nguyên chất và hòa tan vào nước cất cho vừa đủ 100 ml. pH của dung dịch này là 2,5.

- Dung dịch metyl tím 0,1% trong nước.

5.5.3. Cách tiến hành:

Định lượng độ acid toàn phần của dấm là pha loãng dấm sao cho có độ acid, tính ra acid acêtic là 4g/100ml.

Nếu dấm có màu, khử màu bằng cách lắc 50 ml dấm với 1 – 2g kaolin và lọc. Dịch lọc phải không màu.

Cho vào 2 ống nghiệm:

	Ống 1	Ống 2
Dịch lọc dấm	20 ml	0
Dịch lọc CH ₃ COOH 4%	0	20 ml
Dung dịch metyl tím 0,1%	4 – 5 giọt	4 – 5 giọt

So sánh màu sắc của 2 mẫu với nhau.

Chú thích: Có thể xác định pH bằng pH mét.

CÂU HỎI ÔN TẬP

5.1. Trình bày nguyên lý, cách tiến hành, cách tính kết quả của phương pháp xác định hàm lượng acid toàn phần, acid cố định, acid dễ bay hơi trong một mẫu thực phẩm.

5.2. Dùng dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn độ 20 ml dung dịch HCl thì tiêu tốn hết 15 ml. Tính:

- Số đương lượng gam HCl có trong 20 ml dung dịch HCl trên.
- Khối lượng HCl có trong 1 lít dung dịch HCl trên.

5.3. Dùng dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn độ 10 ml dung dịch H₂SO₄ thì tiêu tốn hết 12 ml. Tính:

- Số đương lượng gam H₂SO₄ có trong 10 ml dung dịch H₂SO₄ trên.
- Khối lượng H₂SO₄ có trong 1 lít dung dịch H₂SO₄ trên.

5.4. Để xác định hàm lượng acid toàn phần trong một mẫu rượu trắng, người ta lấy một lượng mẫu thừa đuổi hết CO₂ và SO₂. Sau đó lấy 30 ml mẫu đã chuẩn bị trên đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,05N thì tiêu tốn hết 8 ml.

Tính hàm lượng acid toàn phần trong mẫu rượu trên trên (quy ra acid acêtic).

5.5. Hòa tan 10g thực phẩm để được 100 ml dung dịch, lấy 20 ml dung dịch này đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 1,2 ml. Xác định độ acid toàn phần của mẫu thực phẩm này. (tính theo đơn vị % khối lượng acid acêtic)

5.6. Để xác định hàm lượng acid toàn phần trong một mẫu thực phẩm, người ta lấy một lượng mẫu thừa đuổi hết CO₂ và SO₂, sau đó lấy 40 ml mẫu này đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,02N thì tiêu tốn hết 4 ml.

Tính hàm lượng acid toàn phần trong mẫu thực phẩm này (quy ra acid acêtic).

5.7. Để xác định hàm lượng acid dễ bay hơi trong một mẫu thực phẩm, người ta lấy 10,4537g mẫu thử cho vào bình cất chứa 500ml nước trung tính. Tiến hành cất cho đến khi thu được 300ml dung dịch, đun dung dịch vừa cất được đến vừa sôi để đuổi hết khí CO₂, cho thêm vài giọt PP rồi chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,05N thì tiêu tốn hết 5,3ml.

Tính hàm lượng acid dễ bay hơi trong mẫu thực phẩm trên (quy ra acid acêtic).

5.8. Để xác định hàm lượng acid trong một mẫu thực phẩm, người ta lấy một lượng mẫu thừa đuổi hết CO₂ và SO₂. Sau đó:

a. Lấy 20 ml mẫu đã chuẩn bị trên đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 3 ml.

b. Lấy 20 ml mẫu đã chuẩn bị trên đem cô cạn, sau đó dùng 30 ml nước cất trung tính để hòa tan rồi đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1 N thì tiêu tốn hết 1,2 ml.

Tính hàm lượng acid toàn phần, acid dễ bay hơi, acid cố định trong mẫu thực phẩm trên (quy ra acid acêtic).

5.9. Lấy 20 ml nước giải khát đem đuổi hết CO₂ rồi chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 5 ml. Xác định hàm lượng acid (quy ra acid acêtic) có trong mẫu.

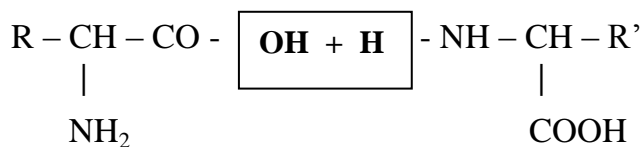
Chương 6

ĐỊNH LƯỢNG PROTID

6.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ PROTID:

Về phương diện hóa học, Protid là những chất hữu cơ mà thành phần cấu tạo gồm C, H, O và N, có khi còn có thêm P và S.

Protid bao gồm các acid amin và những hợp chất (peptid, protein) khi thủy phân cho một hoặc nhiều loại acid amin. Peptid là do một số giới hạn acid amin kết hợp với nhau bởi dây nối peptid (nhóm chức acid của acid amin này kết hợp với nhóm chức amin của acid amin kia)



Còn protein là những protid khác (không có dây nối peptid) chia thành Oholoprotein khi thủy phân cho các acid amin, và heteroprotein, ngoài acid amin, còn cho những chất không phải là protid (gọi là chất phi protid), thí dụ như alcaloid.

6.2. ĐỊNH LƯỢNG PROTID THÔ – PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL:

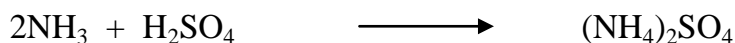
Về nguyên tắc, protid thô trong thực phẩm được định lượng bằng cách xác định lượng ni tơ toàn phần và kết quả nhân với 6,25. Như thế có nghĩa là coi protid luôn luôn chứa 16% ni tơ. Thực tế, trong thực phẩm, bên cạnh protid thật, có những chất hữu cơ khác có chứa ni tơ như amid, ammoniac, acid citric, ... do đó hàm lượng ni tơ toàn phần chính thức cao hơn 16%. Protid động vật, hàm lượng ni tơ toàn phần thường cao hơn 16% và ở thực vật thì lượng này thấp hơn 16%. Trị số 6,25 là trị số trung bình.

Lượng ni tơ chung (ni tơ toàn phần hay ni tơ của protid thô) trong các phẩm vật có nguồn gốc sinh vật thường được xác định bằng phương pháp Kjeldahl.

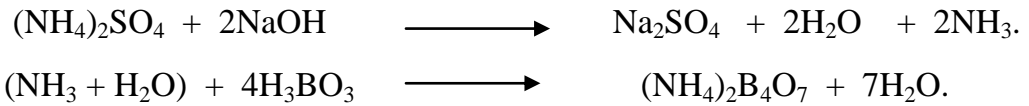
ĐỊNH LƯỢNG NI TƠ TOÀN PHẦN (Ni tơ của Protid thô):

6.2.1. Nguyên tắc của phương pháp:

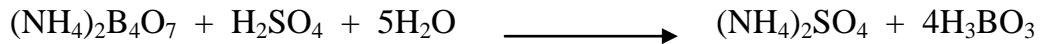
Khi đốt nóng phẩm vật đem phân tích với H₂SO₄ đậm đặc, các hóa chất hữu cơ bị Oxy hóa, Carbon và Hidro tạo thành CO₂ và H₂O, còn ni tơ sau khi được giải phóng ra dưới dạng NH₃ kết hợp với H₂SO₄ tạo thành (NH₄)₂SO₄ tan trong dung dịch.



Đuổi NH₃ khỏi dung dịch bằng NaOH đồng thời cất và thu NH₃ bằng một lượng dư H₃BO₃.



Định phân lượng Ammonium tetraborat tạo thành bằng dung dịch H_2SO_4 chuẩn, qua đó tính được dễ dàng lượng ni tơ có trong mẫu phân tích. Phản ứng xảy ra:



Cũng có thể hấp thu NH_3 bằng một lượng dư H_2SO_4 chuẩn, sau đó phần H_2SO_4 chuẩn dư sẽ được định phân bằng NaOH chuẩn.

6.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Bình Kjeldahl.
- Bộ chưng cất đạm (hình 6.1 và 6.2)
- H_2SO_4 đậm đặc ($d = 1,84$).
- Chất xúc tác: có thể dùng một trong các hỗn hợp sau đây:

a.- K_2SO_4	50 g.
CuSO_4	3,5g
b.- K_2SO_4	100 g.
CuSO_4	10 g.
Se bột	1 g
c.- K_2SO_4	100 g.
CuSO_4	10 g.
HgO	10 g.

Hai loại sau làm vô cơ hóa rất nhanh, nhưng loại thứ ba có hơi Hg độc.

- NaOH 50% ($d = 1,33$), không chứa carbonat.
- Chỉ thị màu, có thể dùng:
 - + Alizarin natri sulfonat hoặc
 - + Chỉ thị màu Tashiro gồm:

Dung dịch A: Metil đỏ 0,10 g
 Còn 95° vừa đủ 100 ml.
 Hòa tan ở nồi cách thủy sôi.

Dung dịch B: Dung dịch Metilen xanh 1% trong nước 4 ml.
 Còn 95° vừa đủ 100 ml

Khi dùng pha 1 thể tích dung dịch A với 1 thể tích dung dịch B.

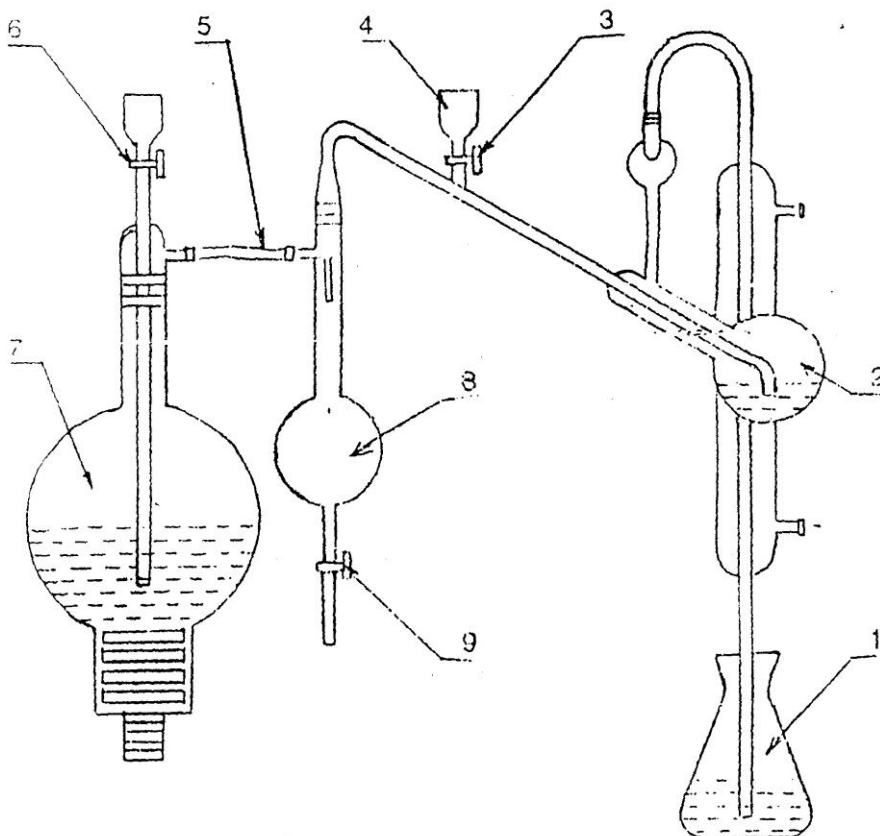
Hỗn hợp chỉ thị màu này có màu xanh lục ở $\text{pH} > 5,5$, chuyển thành tím ở $\text{pH} < 5,5$. Chuyển màu ở giai đoạn màu xám bần ($\text{pH} = 5,5$). Trong trường hợp chuyển màu không rõ ràng, có thể thay đổi tỷ lệ pha chế giữa hai dung dịch để làm sao, khi chuyển màu thì màu xanh lục giảm từ từ và một giọt dung dịch chuẩn NaOH 0,1 N làm màu chuyển sang xám bần đột ngột và thêm một giọt nữa màu chuyển sang tím.

- Dung dịch Acid boric có $\text{pH} = 5,5$.

Acid boric 40 g.
Nước cất vừa đủ 1000 ml.

Hòa tan 40 g acid boric vào trong một ít nước nóng, sau khi để nguội, cho thêm nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh đến $\text{pH} = 5,5$ bằng NaOH 0,1N với hỗn hợp chỉ thị màu Tashiro cho đến màu xám bần (khoảng 13 ml).

- Dung dịch chuẩn H_2SO_4 0,1 N hoặc HCl 0,1 N.
- Natri hyposulfit tinh khiết ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) hoặc natri hypophosphit (NaH_2PO_4).



Hình 6.1: Bộ chung cất KJELDAHL

- | | | |
|--------------|---------------|-------------|
| 1. Bình hứng | 3,5,6,9. Khóa | 7. Bình đốt |
| 2. Bình cát | 4. Phễu | 8. Bình rửa |

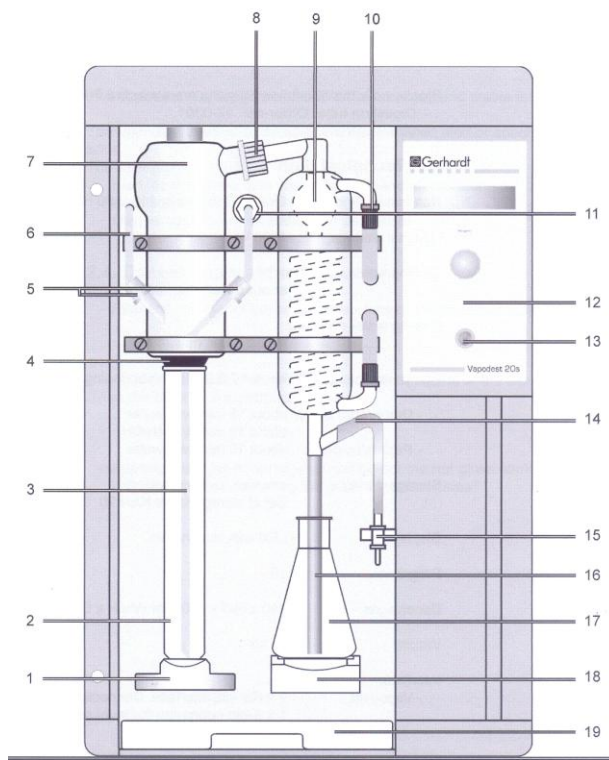
6.2.3. Cách tiến hành:

Cân mẫu nguyên liệu chứa 5 – 10 mg ni tơ (khi dùng phương pháp vi lượng) và cho vào bình Kjeldahl 100 hoặc 250. Nếu là mẫu nguyên liệu thực vật đã nghiền nhỏ, sấy khô đến khối lượng không đổi ở 100 – 105°C thì cân 0,5 – 1,0 g, nếu là nguyên liệu thực vật tươi thì cân 3,0 – 5,0 g, nếu là nguyên liệu giàu protein như thịt, cá, đậu,.... thì lấy lượng mẫu cân là 0,2 - 0,3 g. (Chú ý thủ thuật chuyển mẫu nguyên liệu vào bình Kjeldahl sao cho nguyên liệu không dính vào thành cổ bình).

Cho vào bình Kjeldahl 10 ml H_2SO_4 đậm đặc (khối lượng riêng 1,84). Để tăng nhanh quá trình vô cơ hóa (đốt cháy) cần cho thêm chất xúc tác. Tốt nhất là dùng 0,5 g hỗn hợp $K_2SO_4 : CuSO_4 : Se$ (100 : 10 : 1). Có thể dùng một mảnh Se kim loại (0,05 g) hoặc dùng hỗn hợp $CuSO_4$ và K_2SO_4 (1 : 3).



(a)



(b)

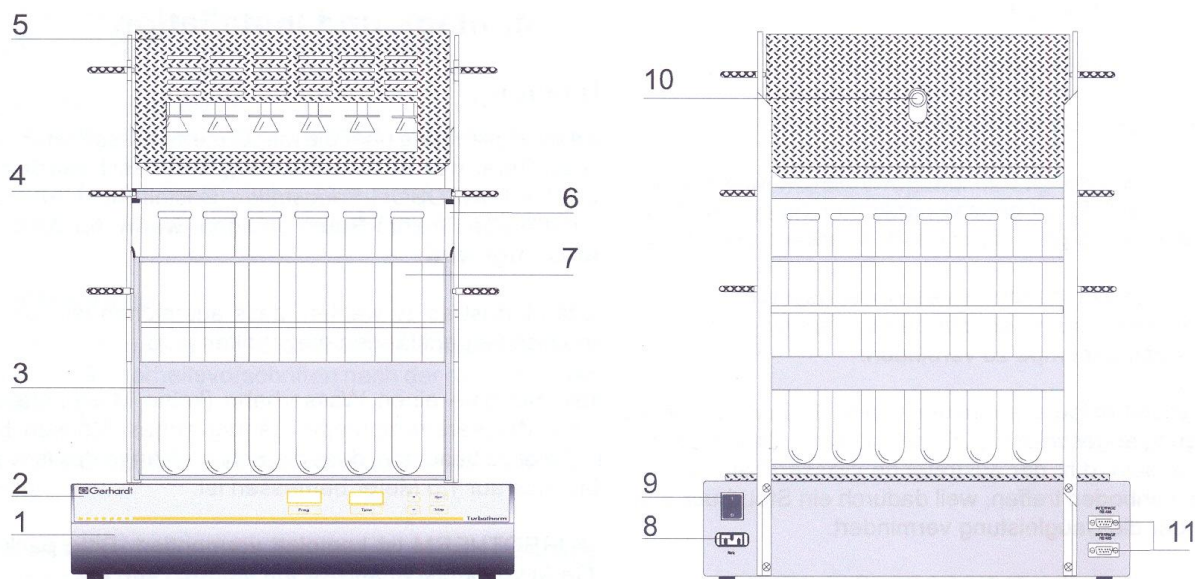
Hình 6.2: Bộ chung cất đạm của Công ty Vapodest

(a): Hình chung

(b) Sơ đồ chi tiết bộ chung cất đạm:

3. Ống dẫn hơi nước vào ống Kjeldahl
6. Ống bơm NaOH vào
9. Bộ phận ngưng tụ
12. Bảng điều khiển
15. Van thông hơi
18. Đế đỡ bình hấp thu

1. Đế giữ ống Kjeldahl
2. Ống Kjeldahl
4. Nắp cao su hình côn
5. Ống nối
7. Phần đầu bộ phận chung cất
8. Chụp nối
10. Đầu nối
11. Đầu nối
13. Công tắc chính
14. Ống dẫn đến van thông hơi
16. Ống dẫn chất ngưng tụ ra
17. Bình tam giác
19. Khay hứng



Hình 6.3: Thiết bị vô cơ hóa mẫu (đốt đạm)

- | | | |
|------------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1. Bộ phận cung cấp nhiệt | 2. Bàn phím điều khiển | 3. Tấm định vị các ống |
| 4. Máng hứng | 5. Bộ phận hút khí | 6. Thanh đỡ |
| 7. Ống Kjeldahl | 8. Nơi cung cấp điện vào | 9. Công tắc điện |
| 10. Nơi nối ống hút hơi acid | | |

Đề nghiêng bình Kjeldahl trên bếp và đun từ từ. Nếu thực phẩm chứa nhiều nước, đun cho đến khi nước bốc hơi và hình thành khói trắng SO_3 . Khi bọt tan, đun sôi cho đến khi dung dịch trong suốt, không màu hoặc có màu xanh lơ của CuSO_4 , để nguội.

Chuyển dung dịch đã vô cơ hóa vào bình cầu của máy cất đạm, rửa bình Kjeldahl 2 lần với nước cất, nước rửa chuyển vào bình cầu. Trung hòa bằng NaOH 50% với alizarin natri sulfonat làm chỉ thị màu (hoặc với chỉ thị màu Tashiro), sau đó cho thêm 5 ml NaOH 50%. Cát kéo hơi nước và định lượng trực tiếp NH_3 bay sang hòa tan trong bình hứng bằng dung dịch H_2SO_4 0,1N.

6.2.4. Tính kết quả:

Hàm lượng nitơ toàn phần X theo phần trăm tính bằng công thức:

$$X = 0,014 \cdot N_A \cdot V_A \cdot \frac{100}{P} (\%) \quad (6.1)$$

Trong đó:

N_A : nồng độ đương lượng dung dịch H_2SO_4 dùng chuẩn độ mẫu thử.

V_A : thể tích dung dịch H_2SO_4 dùng để chuẩn độ mẫu thử, ml.

P : Khối lượng mẫu thử tính bằng g.

Chú thích:

Có thể chuẩn độ NH_3 bay ra bằng phương pháp gián tiếp. Trong trường hợp này để NH_3 hòa tan vào một thể tích H_2SO_4 0,1N hút thật chính xác, sau khi cất kéo hơi nước hết NH_3 , chuẩn độ H_2SO_4 thừa bằng NaOH 0,1N. Kết quả hàm lượng nitơ toàn phần theo phần trăm X tính bằng công thức:

$$X = 0,014(N_A V_A - N_B V_B) \frac{100}{P} (\%) \quad (6.2)$$

Trong đó:

N_A , V_A : nồng độ đương lượng và thể tích dung dịch H_2SO_4 cho vào erlen trước để kết hợp với NH_3 .

N_B , V_B : nồng độ đương lượng và thể tích dung dịch NaOH dùng để chuẩn độ H_2SO_4 thừa.

P : Khối lượng mẫu thử tính bằng g.

- Trường hợp thực phẩm có chứa nitrat phải phân tích nitrat riêng và kết quả nitơ toàn phần trừ đi kết quả nitơ nitrat mới là kết quả nitơ hữu cơ. Hàm lượng protid bằng hàm lượng nitơ hữu cơ nhân với 6,25.

- Trường hợp dùng chất xúc tác có chứa thủy ngân, trước khi cất NH_3 để định lượng cho vào 1g natri hyposulphit hay natri hypophosphit để phá hủy hợp chất thủy ngân hình thành.

6.3. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN.

Phương pháp Kjeldahl định lượng ni tơ toàn phần, nghĩa là ni tơ của protid thô (gồm ni tơ của protein, peptid, polypeptid và nitơ của các chất phi protid).

Các phương pháp định lượng protein hòa tan gồm 3 loại:

- Các phương pháp thường.
- Các phương pháp bán vi lượng.
- Phương pháp vi lượng.

Các phương pháp này dựa vào việc tách và kết tủa protein thật ra khỏi chất thử, rồi định lượng ni tơ trong kết tủa protid theo phương pháp Kjeldahl.

Ở đây ta chỉ nghiên cứu phương pháp thường để định lượng protein.

Phương pháp Stutzer – Barnstein:**6.3.1. Nguyên lý:**

Chiết protein từ thực phẩm bằng nước. Kết tủa protein ở dịch chiết bằng CuSO_4 . Tách kết tủa, rửa sạch và định lượng ni tơ toàn phần trong kết tủa bằng phương pháp Kjeldahl.

6.3.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm
- Dung dịch CuSO_4 :
 - CuSO_4 60 g
 - Nước cất vừa đủ 1000ml
- Dung dịch NaOH :
 - NaOH 12,5 g
 - Nước cất vừa đủ 1000ml
- Dung dịch Kali ferocyanur:
 - Kali ferocyanur 5 g
 - Nước cất vừa đủ 100ml
- Dung dịch BaCl_2 :
 - BaCl_2 10 g
 - Nước cất vừa đủ 100ml

6.3.3. Cách tiến hành:

Cân thật chính xác khoảng 10g chất thử đã nghiền nhuyễn, cho vào cốc thủy tinh với 50 ml nước cất. Đun sôi.

Cho vào dịch chiết 25 ml dung dịch CuSO_4 và tiếp theo, vừa khuấy vừa cho từ từ 25 ml dung dịch NaOH . Sau khi để kết tủa lắng yên, nước ở phía trên phải có phản ứng kiềm (thử với giấy quỳ) và phải có thừa Cu^{++} (phản ứng lên màu nâu với Kali ferocyanur). Gạn lọc bỏ lớp nước trên qua giấy lọc. Rửa tủa bằng nước cất, và gạn lọc bỏ lớp nước trên qua giấy lọc. Khi nào nước lọc không cho phản ứng dương tính với Kali ferocyanur nữa (hết Cu^{++}), hoặc với Bari Clorur (hết SO_4^{--}) đổ hết cả tủa lẫn nước trên giấy lọc. Tráng cốc nhiều lần với nước cất và đổ hết lên giấy lọc.

Đổ ráo nước, cho kết tủa protein cùng với giấy lọc vào bình Kjeldahl và tiến hành định lượng ni tơ trong kết tủa theo phương pháp Kjeldahl.

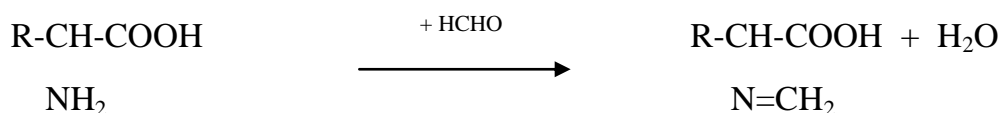
6.4. ĐỊNH LƯỢNG NITƠ ACID AMIN.

Phương pháp định lượng nitơ formol:

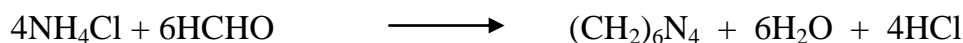
6.4.1. Nguyên lý:

Các acid amin trong dung dịch nước thì trung tính do hai nhóm chức: $-\text{COOH}$ và $-\text{NH}_2$ trung hòa lẫn nhau và cả hai nhóm chức ấy đều yếu, quá trình điện ly kém.

Khi gặp formol (HCHO) nhóm $-\text{NH}_2$ kết hợp với formol thành nhóm $-\text{N}=\text{CH}_2$ mất tính chất kiềm, làm cho nhóm $-\text{COOH}$ nổi bật lên và có thể được định lượng bằng một chất kiềm với phenolphthalein làm chất chỉ thị.



Lưu ý: Các muối Amonium (như NH_4Cl) ở dung dịch trung tính khi gặp formol cũng làm cho dung dịch trở thành acid do hình thành hexametylen tetramin và HCl theo phản ứng:



Do đó cũng định lượng được bằng một chất kiềm.

Như vậy nếu trong mẫu thử có cả acid amin lẫn muối amonium thì nitơ formol là tổng của nitơ acid amin và nitơ amonium. Muốn có nitơ acid amin ta phải trừ đi nitơ amonium.

6.4.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Các dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Formol trung tính. Trước khi sử dụng, formol cần được trung hòa bằng NaOH 0,2N với chất chỉ thị là P.P.
- Dung dịch P.P. 1% trong cồn 90° .
- Dung dịch dinatri phosphat 0,1N (chứa 17,91g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ / lít)
- Dung dịch NaOH 0,2N.
- Dung dịch $\text{Ba}(\text{OH})_2$ bão hòa trong cồn mêtýlic.
- BaCl_2 tinh thể.

6.4.3. Cách tiến hành:

Cân chính xác P(g) chất thử đã xay nhuyễn (hoặc Vml nếu mẫu thử là chất lỏng) cho vào bình định mức 100 ml với 50 ml nước cất, lắc mạnh trong 10 phút để hòa tan. Cho thêm 0,5 ml dung dịch P.P. , khoảng 2g BaCl_2 và từng giọt $\text{Ba}(\text{OH})_2$ cho đến khi có màu hồng nhạt, sau đó thêm 5 ml $\text{Ba}(\text{OH})_2$ để kết tủa các muối phosphat và carbonat. Cho nước cất vừa đủ 100 ml. Lắc đều và lọc.

Lấy 25 ml dịch lọc, cho vào erlen với 20 ml dung dịch formol trung tính. Chuẩn độ bằng NaOH 0,2N cho đến màu đỏ tươi ($\text{pH} = 9 - 9,5$).

6.4.4. Tính kết quả:

Hàm lượng nitơ formol X(g) trong 100g chất thử:

$$X = 14 \cdot N_B \cdot \frac{V_B}{1000} \cdot \frac{V_{dm}}{V_{cd}} \cdot \frac{100}{P} \quad (\text{g}/100\text{g}) \quad (6.3)$$

Hoặc hàm lượng nitơ formol X(g) trong 1000 ml chất thử:

$$X = 14 \cdot N_B \cdot \frac{V_B}{1000} \cdot \frac{V_{dm}}{V_{cd}} \cdot \frac{100}{V} \quad (6.4)$$

Trong đó: 14 : nguyên tử lượng của nitơ .
 N_B : nồng độ đương lượng của dung dịch NaOH.
 V_B : số ml NaOH sử dụng.
 V_{dm} : thể tích mẫu sau khi pha trong bình định mức, ml
 V_{cd} : thể tích mẫu lấy đi chuẩn độ, ml.
 V hoặc P : số ml hoặc số g chất thử.

Để xác định lúc chuyển sang màu đỏ tươi, người ta làm một dung dịch màu chuẩn để so sánh như sau: lấy 100 ml Na_2HPO_4 0,1N (có pH = 9,3) trộn đều với 0,5 ml P.P. 1%.

6.5. ĐỊNH LƯỢNG AMONIAC NH_3 :

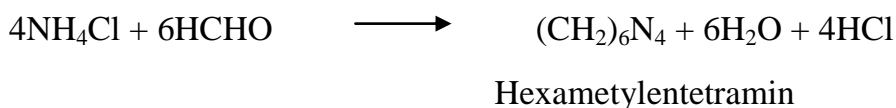
Amoniac là thành phần xấu của thực phẩm, hình thành do sự lên men thối protid.

Trong các phương pháp định lượng nitơ toàn phần (định lượng protid nói chung), nitơ formol (định lượng acid amin) đều có định lượng kèm cả amoniac. Do đó khi xác định amoniac trong thực phẩm, một mặt sẽ xác định độ hư hỏng của thực phẩm, mặt khác đánh giá được đúng giá trị về protid, acid amin,... của thực phẩm.

6.5.1. Phương pháp định lượng bằng formol:

1. Nguyên lý:

Amoniac trong thực phẩm dưới dạng tự do hoặc dưới dạng muối amonium, khi gặp formol sẽ xảy ra phản ứng:



Nếu dung dịch muối amonium trung tính và dung dịch formol cũng trung tính thì HCl hình thành là hoàn toàn từ muối amonium. Từ số lượng NaOH dùng để định lượng HCl có thể tính ra hàm lượng nitơ amoniac, amoniac hoặc muối amonium trong dung dịch cần thử.

Phương pháp này có nhược điểm là nếu dung dịch thử có chứa acid amin thì độ acid hình thành một phần cũng từ acid amin.

2. Cách tiến hành:

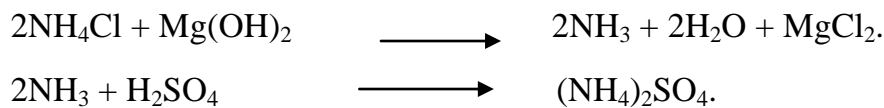
(Xem phần định lượng nitơ formol trong phương pháp định lượng acid amin ở phần trên).

6.5.2. Phương pháp định lượng bằng cách cất kéo hơi nước:

1. Nguyên lý:

Đẩy muối amoniun ra thể tự do bằng một chất kiềm mạnh hơn amoniac, nhưng không mạnh lắm để tránh ảnh hưởng đến thực phẩm, thí dụ như $Mg(OH)_2$, Na_2CO_3 . Dùng hơi nước kéo amoniac đã được giải phóng ra thể tự do sang bình chuẩn độ và định lượng bằng H_2SO_4 0,1N với alizarin natri sulfonat làm chỉ thị màu.

Phản ứng:



2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- MgO bột hoặc tinh thể.
- Dầu parafin hoặc cồn octylic.
- Dung dịch alizarin natri sulfonat 1% trong nước
- Dung dịch H_2SO_4 0,1N.
- Dung dịch NaOH 0,1N.
- Dụng cụ vật liệu thông thường trong phòng thí nghiệm.

Dụng cụ cất amoniac gồm:

- + Bình cầu A đựng nước và đun sôi làm nguồn sinh hơi nước.
- + Bình cầu B đựng thực phẩm định lượng.
- + Ống sinh hàn C.
- + Bình chuẩn độ D.

3. Cách tiến hành:

Trong phương pháp định lượng amoniac, nước sử dụng nhất thiết không được có amoniac hay muối amoniun, do đó trước khi cất kéo amoniac để định lượng, phải rửa máy cho thật kỹ để loại bỏ amoniac, nếu có. Cho nước cất vào bình cầu A đến 2 phần 3 thể tích của bình, năm giọt chỉ thị màu alizarin natri sulfonat và H_2SO_4 0,1N từng giọt một, cho đến khi có phản ứng acid (màu vàng). Nếu nước cất có amoniac hoặc muối amoniun, sẽ kết hợp với H_2SO_4 thành $(NH_4)_2SO_4$ bền vững. Nước trong bình cầu A là nguồn nước để sinh hơi nước, nên khi đun sôi NH_3 cũng không bị tách khỏi $(NH_4)_2SO_4$ và hơi nước sẽ không chứa amoniac, sau đó cho nước

cát vào bình cầu B đến hơn một nửa, lắp nguồn nước lạnh vào ống sinh hàn, đun sôi cả hai bình và cát kéo hơi nước cho đến khi hơi nước chảy ra trung tính. Kết thúc giai đoạn rửa máy cát amoniac.

Cân hoặc hút một lượng chính xác P(g) hoặc V(ml) thực phẩm, cho vào bình cầu B, với nước trung tính đã cát kéo hơi nước để rửa máy ở trên, 0,5 ml chỉ thị màu. Cho MgO bột vào tới khi có phản ứng kiềm rõ rệt (màu tím). Để tránh bọt sủi phồng lên, cho thêm vài giọt dầu parafin hoặc ceton octylic. Đun sôi, hơi nước bốc lên ở bình A, qua bình đựng thực phẩm B kéo NH₃ theo khi qua ống sinh hàn sẽ đọng lại, rơi xuống bình chuẩn độ D đã đựng sẵn nước trung tính, chỉ thị màu và N(ml) H₂SO₄ 0,1N.

Cát cho đến khi hơi nước bay ra không còn NH₃ nữa (thử với giấy quỳ không cho phản ứng kiềm). Hơi NH₃ bay ra kết hợp với H₂SO₄ thành (NH₄)₂SO₄. H₂SO₄ thừa sẽ chuẩn độ bằng NaOH 0,1N.

Chú ý:

Lượng H₂SO₄ trong bình chuẩn độ bao giờ cũng phải nhiều hơn NH₃, nếu thấy màu trong bình chuẩn chuyển thành màu tím là thiếu H₂SO₄, phải cho thêm H₂SO₄ 0,1N và nhớ lượng cho thêm để sau này tính kết quả.

4. Tính kết quả:

Hàm lượng NH₃ trong 100g thực phẩm X được tính theo công thức:

$$X = 1,7 \cdot (N - n) \cdot \frac{100}{1000P} (g) \quad (6.5)$$

Hoặc trong 1.000 ml thực phẩm:

$$X = 1,7 \cdot \frac{N - n}{V} (g) \quad (6.6)$$

Trong đó:

N : số ml H₂SO₄ 0,1N cho vào bình chuẩn độ.

n : số ml NaOH 0,1N dùng để chuẩn độ H₂SO₄ thừa.

P : số g thực phẩm cân để định lượng.

V : số ml thực phẩm hút để định lượng.

CÂU HỎI ÔN TẬP.

6.1. Trình bày nguyên lý, cách thực hiện, cách tính kết quả của phương pháp Kjeldahl khi xác định hàm lượng Protid thô trong một mẫu thực phẩm.

6.2. Để xác định lượng Protid có trong một mẫu thực phẩm, người ta thực hiện như sau:

Lấy 5g mẫu đem vô cơ hóa bằng H_2SO_4 , với xúc tác, sau đó dùng một lượng dư NaOH để đuổi hết NH_3 ra khỏi dung dịch đã vô cơ hóa, lượng NH_3 này được hấp thu bằng 50ml dung dịch H_2SO_4 0,05N. Sau đó đem dung dịch H_2SO_4 này chuẩn độ lại bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 10ml.

a. Viết các phương trình phản ứng xảy ra của từng giai đoạn cụ thể.

b. Tính hàm lượng Protid có trong mẫu (g protid / 100g mẫu).

6.3. Để xác định lượng Protid có trong một mẫu thực phẩm, người ta thực hiện như sau:

Lấy 5g mẫu đem vô cơ hóa bằng H_2SO_4 , với xúc tác, sau đó dùng một lượng dư NaOH để đuổi hết NH_3 ra khỏi dung dịch đã vô cơ hóa, lượng NH_3 này được hấp thu bằng một lượng thừa dung dịch H_2SO_4 0,1N. Sau đó đem dung dịch H_2SO_4 này chuẩn độ lại bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 20ml.

Làm lại thí nghiệm với các số liệu y hệt như thí nghiệm trên nhưng thay mẫu thực phẩm bằng mẫu trắng thì thể tích dung dịch NaOH 0,1N dùng để trung hòa H_2SO_4 là 30ml.

Tính hàm lượng Protid có trong mẫu (g protid / 100g mẫu).

6.4. Trình bày nguyên lý, cách thực hiện, cách tính kết quả của phương pháp định lượng nitơ formol.

6.5. Để xác định lượng Nitơ formol có trong một thực phẩm, người ta thực hiện như sau:

Lấy 5,1254g mẫu cho vào bình định mức 250 ml đang chứa 100 ml nước cất, lắc mạnh trong 10 phút để hòa tan. Cho thêm vài giọt PP rồi pha đến vạch định mức. Lắc đều và lọc.

Lấy 25 ml dung dịch lọc đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,2N thì tiêu tốn hết 12,5ml. Tính hàm lượng Nitơ formol trong mẫu thực phẩm trên (g/100g mẫu).

6.6. Để xác định lượng Nitơ formol có trong một mẫu nước mắm, người ta thực hiện như sau:

Lấy 10ml mẫu nước mắm cho vào bình định mức 250 ml đang chứa 100 ml nước cất, lắc mạnh trong 10 phút để hòa tan. Cho thêm vài giọt PP rồi pha đến vạch định mức. Lắc đều và lọc.

Lấy 20 ml dung dịch lọc đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,2N thì tiêu tốn hết 18,3ml. Tính hàm lượng Nitơ formol trong mẫu thực phẩm trên (g/100g mẫu).

6.7. Để xác định hàm lượng muối amonium trong một mẫu thực phẩm, người ta dùng phương pháp cất kéo hơi nước.

Lượng mẫu dùng là 10,3476g, được cho vào bình cầu đã chứa nước và MgO (đủ để đuổi hết NH_3 ra khỏi mẫu). Lượng NH_3 bay ra được hấp thu trong erlen chứa 50 ml H_2SO_4 0,1N. Sau đó đem chuẩn độ lượng H_2SO_4 thừa bằng dung dịch NaOH 0,1N thì tiêu tốn hết 20 ml.

a. Viết các phương trình phản ứng xảy ra.

b. Xác định hàm lượng NH_3 có trong mẫu thực phẩm nói trên.

6.8. Cân 5,0000 g mẫu thực phẩm đã nghiền nhỏ, đem hòa tan bằng nước cất trong một bêcher, đun sôi. Cho vào dịch chiết 25 ml dung dịch CuSO_4 (lượng thừa), sau đó vừa khuấy vừa thêm từ từ 25 ml dung dịch NaOH (lượng thừa). Để kết tủa lắng yên (dung dịch phía trên có phản ứng kiềm và lên màu nâu với Kali ferrocyanur). Lọc bằng giấy lọc, rửa tủa bằng nước cất cho đến khi hết Cu^{++} (thử bằng dung dịch Kali Ferrocyanur). Để ráo nước, xong cho giấy và tủa vào bình Kjeldahl để vô cơ hóa. Dung dịch sau khi vô cơ hóa được đem pha loãng trong bình định mức 250 ml. Hút 50 ml dung dịch này tiến hành định lượng Nitơ theo phương pháp Kjeldahl với chất hấp thu NH_3 là dung dịch H_3BO_3 . Đem dung dịch sau khi hấp thu NH_3 đi chuẩn độ bằng dung dịch H_2SO_4 0,1N với chất chỉ thị màu là PP thì tiêu tốn hết 5 ml. xác định hàm lượng Protid thật trong mẫu thực phẩm nói trên.

Chương 7:**ĐỊNH LƯỢNG GLUCID****7.1. ĐẠI CƯƠNG:**

Glucid là những hợp chất hữu cơ trong phân tử có C, H, O kết hợp với nhau, trong đó có nhiều nhóm hydroxyt và một nhóm aldehyd hoặc ceton tự do (glucoza, fructoza,...) hoặc một hay nhiều nhóm aldehyd hay ceton kết hợp với các nhóm chức khác (saccaroza, tinh bột,...)

7.2. CÁC PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM GLUCID:

Có nhiều phương pháp để xác định hàm lượng đường trong một mẫu. Tùy theo điều kiện thực tế mà ta chọn phương pháp thích hợp để thực hiện.

7.2.1. Trường hợp trong thực phẩm chỉ chứa một loại đường:

Trường hợp mẫu thực phẩm chỉ chứa một loại đường khử, ta có thể chọn phương pháp thích hợp để định lượng trực tiếp. Nếu thực phẩm chứa một ozit (tinh bột, dextrin hoặc saccaroza) thì phải thủy phân trước rồi sau đó mới tiến hành định lượng. Kết quả có thể tra bảng hoặc tính từ các hệ số sau đây:

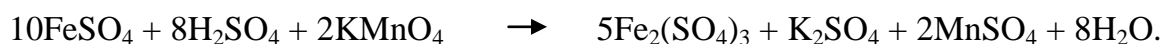
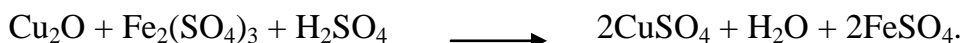
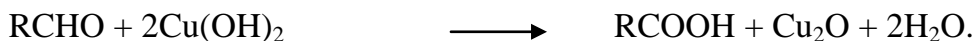
* Lượng tinh bột = lượng Glucoza x 0,9.

* Lượng saccaroza = lượng Glucoza x 0,95.

PHƯƠNG PHÁP BERTRAND:**1. Nguyên lý:**

Trong môi trường kiềm, đường khử sẽ khử Cu^{2+} thành Cu^+ (kết tủa màu đỏ gạch), Cu^+ này sẽ khử Fe^{3+} (cho vào với một lượng thừa) trong môi trường acid thành Fe^{2+} , sau đó dùng dung dịch chuẩn KMnO_4 để chuẩn độ lượng Fe^{2+} sinh ra.

Các phản ứng xảy ra:



Từ số ml KMnO_4 0,1 N dùng để chuẩn độ FeSO_4 hình thành, tra bảng để có số mg đường glucoza, maltoza, lactoza hoặc saccaroza, nhân với hệ số pha loãng, ta có hàm lượng đường trong 100 g thực phẩm.

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường trong phòng thí nghiệm như : pipet, buret các loại, erlen, bêcher, phễu, giấy lọc,.....

- Phễu lọc thủy tinh G₄.
- Nồi cách thủy.
- Nhiệt kế đo được đến 100°C.
- Dung dịch NaOH 20% ; 10% ; 1%.
- HCl tinh khiết (d = 1,19).
- Dung dịch khử tạp : Chì acêtat 30% hoặc Kali ferrocyanur 15% và kẽm acetate 30%.
- Thuốc thử Fehling gồm:

Thuốc thử Fehling A:

- CuSO₄ tinh thể 69,28 g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml

Lắc kỹ cho tan, nếu không tan thì cho thêm acid sulfuric và lắc kỹ.

Thuốc thử Fehling B:

- Kali natri tartrat 346 g
- NaOH 100 g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml

Hòa tan 346 g kali natri tartrat trong 400 – 500 ml nước cất. Mặt khác, hòa tan 100 g NaOH trong 200 – 300 ml nước cất. Trộn hai dung dịch với nhau và thêm nước cất vừa đủ 1000 ml.

Khi dùng lấy 10 ml dung dịch Fehling A pha với 10 ml dung dịch Fehling B.

- Dung dịch sắt (III) sulfat :

- Fe₂(SO₄)₃ 50 g
- H₂SO₄ đậm đặc 200g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml.

Hòa tan sắt (III) sulfat trong một lượng nước đủ để tan. Thêm vào từ từ, vừa cho vừa lắc đều 200 g acid sulfuric đậm đặc, để nguội và thêm nước vừa đủ 1000ml. Dung dịch này không được chứa sắt (II) oxyt hoặc sắt (II) muối do đó cần oxy hóa sắt (II) bằng cách nhỏ dung dịch KMnO₄ 0,1 N vào cho đến khi có màu phớt hồng.

- Dung dịch KMnO₄ 0,1 N.
- Dung dịch phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

3. Tiến hành thử:

a. Chuẩn bị dung dịch mẫu:

Cân một lượng mẫu, tính sao cho phần lọc để chuẩn độ sẽ có nồng độ đường (biểu thị bằng glucoza) vào khoảng 4 – 10%.

Cho lượng mẫu vào một bình định mức dung tích 500 ml, tráng lại dụng cụ đã đựng mẫu vài lần với nước cất. Nước tráng cho cả vào bình và không được quá 250 ml.

Trung hòa acid hữu cơ có trong mẫu bằng dung dịch NaOH 10% đến pH 7 (kiểm tra bằng giấy pH).

Nếu định lượng các loại đường hòa tan thì chiết suất đường bằng nước cất như sau: đun cách thủy ở 80°C trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc đều trong khi đun. Để nguội đến nhiệt độ phòng, khử tạp chất. Cuối cùng cho thêm nước cất vừa đủ 500 ml, lọc và chuẩn độ nếu là đường glucoza hoặc đường trực tiếp khử oxy khác.

Nếu là đường saccaroza, tiến hành thủy phân bằng cách lấy 50 ml dịch lọc trên cho vào bình định mức dung tích 100 ml, với 5 ml HCl đậm đặc. Đóng nút bình có cắm sẵn một nhiệt kế đo được đến 100°C. Đặt bình vào trong nồi cách thủy (nước đã đun nóng đến 75°C). Sau 2 phút dung dịch thủy phân trong bình phải đạt 68°C, giữ dung dịch ở 68 – 70°C trong đúng 5 phút. Làm nguội nhanh chóng dưới vòi nước chảy. Trung hòa dung dịch, trước bằng NaOH 20%, sau đó bằng NaOH 1%, với P.P. làm chất chỉ thị màu. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và thêm nước cất vừa đủ 100 ml. Dung dịch này dùng để chuẩn độ.

b. Xác định hàm lượng đường:

Cho vào erlen 250 ml:

Dung dịch Fehling A 10 ml

Dung dịch Fehling B 10 ml

Đun sôi. Cho 10 ml dung dịch lọc đã chuẩn bị ở trên và khoảng 20 ml nước cất. Sau 3 phút toàn bộ dung dịch phải sôi. Giữ cho sôi đúng 2 phút kể từ khi bắt đầu sôi lại.

Lấy bình ra và để nghiêng cho cặn đồng (I) oxyt lắng xuống. Dung dịch bên trên lớp cặn phải có màu xanh của đồng (II) hydroxyd. Nếu dung dịch bên trên có màu lục, vàng hoặc nâu, nghĩa là không đủ lượng đồng cần thiết, phải làm lại và lấy một lượng dung dịch lọc ít hơn, cuối cùng cũng thêm nước cất cho có toàn bộ khoảng 50 ml.

Khi kết tủa đồng (I) oxyd lắng xuống, gạn lấy phần nước bên trên và lọc qua phễu có lót giấy lọc.

Cho nước đã đun sôi vào erlen và tiếp tục gạn lọc vào phễu cho đến khi nước trong bình erlen hết màu xanh. Trong quá trình gạn lọc chú ý tránh đừng để cho kết tủa rơi vào phễu và luôn luôn giữ một lớp nước đã đun sôi trên mặt kết tủa trong erlen và trong phễu.

Lần gạn lọc cuối cùng, gạn hết nước và cho ngay vào erlen 20 ml dung dịch sắt (III) sulfat để hòa tan kết tủa đồng (I) oxyt. Rút hết nước trên phễu. Thay erlen cũ bằng bình mới. Đổ dung dịch sắt (III) sulfat đã hòa tan hết kết tủa đồng (I) oxyt trong erlen lên trên lớp cặn còn lại trên phễu. Tráng erlen và rửa phễu bằng dung dịch sắt (III) sulfat cho đến khi không còn vết đồng (I) oxyt trong erlen và phễu. Cho nước chảy xuống hết bình lọc và rửa lại bằng nước cất đun sôi, hút cả xuống bình lọc. Chú ý là chỉ dùng khoảng 30 – 50 ml sắt (III) sulfat để hòa tan kết tủa đồng (I) oxyt, tráng bình và rửa phễu.

Lấy bình lọc ra và chuẩn độ dung dịch sắt (II) hình thành bằng dung dịch KMnO_4 0,1 N cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 15 giây.

Từ thể tích dung dịch KMnO_4 0,1 N dùng, tra bảng ta biết được lượng đường glucoza, lactoza, maltoza hoặc đường nghịch chuyển tùy theo yêu cầu.

7.2.2. Trường hợp trong thực phẩm chứa nhiều loại đường:

1. Định lượng lactoza và saccaroza (như trường hợp sữa đặc có đường):

a. Nguyên lý:

Lactoza là đường trực tiếp khử oxy, định lượng thẳng bằng phương pháp Bertrand. Saccaroza chỉ định lượng được bằng phương pháp Bertrand sau khi thủy phân thành glucoza và fructoza. Trong điều kiện thủy phân ở môi trường HCl 1N ở nhiệt độ 68 – 70°C, thời gian tối đa 7 phút, lactoza không bị ảnh hưởng, còn saccaroza sẽ chuyển thành hai loại đường khử. Do đó định lượng trước và sau khi thủy phân có thể tính được hàm lượng đường lactoza và saccaroza.

b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử giống như trong phương pháp định lượng Bertrand.

- HCl đậm đặc.

c. Tiến hành thử :

*** Chuẩn bị mẫu thử:**

Cân P = 25 g sữa đặc có đường trong chén cân và hòa tan vào một ít nước nóng, đổ vào bình định mức dung tích V_1 (thường là 100 ml), rửa chén cân với một ít nước nóng, nước rửa dồn tất cả vào bình định mức. Cho nước cất nguội đến khoảng ba phần tư bình, lắc đều, cho thêm 5 ml dung dịch kali ferrocianur 15% và 5 ml dung dịch kẽm acetat 30% để khử tạp chất, lắc mạnh đều, làm nguội dưới vòi nước chảy và thêm nước đến vạch định mức. Lắc đều, lọc. Lấy $v_1 = 10$ ml dung dịch lọc này cho vào bình định mức V_2 (thường là 100 ml) và pha thêm nước cất đến vạch định mức.

Lấy $v_2 = 10$ ml dung dịch vừa pha, định lượng đường lactoza theo phương pháp Bertrand. Ghi thể tích n (ml) KMnO_4 0,1 N dùng để định phân.

Mặt khác, lấy $v_3 = 50$ ml cho vào bình định mức dung tích V_3 (thường là 100ml) thêm 5 ml HCl đậm đặc và tiến hành thủy phân (như ở phần phương pháp Bertrand). Cuối cùng lấy $v_4 = 5$ ml, định lượng toàn bộ đường khử (lactoza và đường nghịch chuyển) bằng phương pháp Bertrand. Ghi thể tích n' (ml) KMnO_4 0,1 N dùng để chuẩn độ.

d. Tính kết quả:

Hàm lượng lactoza X_1 (g) trong 100 g sữa đặc có đường:

$$X_1 = \frac{G \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{v_1 \cdot v_2 \cdot P \cdot 1000}$$

Trong đó: G là số mg lactoza tương ứng với n (ml) KMnO_4 0,1 N tra được từ bảng.

Hàm lượng saccaroza X_2 (g) trong 100 g sữa đặc có đường:

$$X_2 = G' \times 0,95 / 1000$$

Trong đó:

G' là số mg đường nghịch chuyển tương ứng với số ml KMnO_4 sử dụng để định lượng đường saccaroza sau khi đã thủy phân thành đường nghịch chuyển, tính như sau:

* Thể tích V (ml) KMnO_4 dùng để định lượng lactoza trong 100 g mẫu là:

$$V = n \times V_1 \times V_2 \times 100 / (v_1 \times v_2 \times P)$$

* Thể tích V' (ml) KMnO_4 dùng để định lượng lactoza trong 100 g mẫu là:

$$V' = n' \times V_1 \times V_2 \times V_3 \times 100 / (v_4 \times v_3 \times v_1 \times P)$$

Thể tích KMnO_4 0,1 N dùng để định lượng đường nghịch chuyển do thủy phân đường saccaroza trong 100 g sữa đặc có đường là $V' - V$.

0,95 là hệ số dùng để chuyển đường nghịch chuyển sang đường saccaroza.

2. Định lượng glucoza và saccaroza trong cùng một mẫu thực phẩm:

Tiến hành như trong trường hợp I, chỉ khi tính thì sử dụng bảng chuyển từ ml KMnO_4 sang glucoza.

7.2.3. Định lượng tinh bột thật:

1. Nguyên lý:

Sau khi loại rửa các tạp chất bằng cồn và ête, tinh bột được hòa tan trong dung dịch HCl, rồi kết tủa bằng cồn 96°. Rửa sạch, cân và từ đó tính ra hàm lượng tinh bột trong 100 g thực phẩm.

Với phương pháp này, định lượng được tinh bột thật, không lẫn các đường khử hoặc các chất chuyển hóa của tinh bột.

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Bình hút chân không bằng sứ: hút với vòi nước chảy.
- Phễu lọc sứ (Buchner).
- Bình định mức 100 ml.
- Giấy lọc tròn vừa với đáy phễu.
- Cồn tinh khiết 96°.
- Dung dịch cồn 10° ; 70°.
- Ete.
- HCl đậm đặc.

3. Cách tiến hành:

Cân 2 g mẫu cho vào phễu sứ ở đáy đã lót lớp giấy lọc cắt tròn. Rửa bằng ete, bằng cồn rồi bằng nước, mỗi thứ hai lần, bằng cách hút chân không.

Cặn và giấy lọc được chuyển sang một cốc thủy tinh, cho vào 11 ml nước cất với 14 ml HCl đậm đặc, khuấy kỹ. Tinh bột hòa tan vào dung dịch. Chuyển sang bình định mức dung tích 100 ml. Rửa cốc thủy tinh và dồn hết nước rửa vào bình định mức, sau đó cho nước vừa đủ 100 ml và lọc.

Hút lấy 50 ml dịch lọc trên cho vào cốc thủy tinh, thêm 110 ml cồn 96° khuấy đều và để yên một đêm trong tủ lạnh (khoảng 10 – 12 giờ) để cho tinh bột kết tủa hết.

Chuẩn bị hai miếng giấy lọc tròn bằng nhau, sấy khô trong cùng một điều kiện và cân. Lồng hai miếng giấy lọc với nhau, giấy số 1 để ở trên giấy số 2, để vào đáy phễu cho thật khít. Lọc kết tủa tinh bột bằng chân không và bằng cách lọc gạn. Rửa kết tủa với 200 ml cồn 70°, sau đó với cồn 96° cho đến khi hết phản ứng Cl^- (thử với bạc nitrat ở môi trường acid nitric). Tách thật khéo để hai miếng giấy lọc riêng rẽ (giấy số 1 phải giữ đầy đủ kết tủa, giấy số 2 làm mẫu đối chứng trắng). Sấy ở nhiệt độ 130°C trong một giờ, để nguội trong bình hút ẩm và cân.

4. Tính kết quả:

Nếu kết quả 2 lần cân như sau:

Giấy lọc số 2 + 2 g = giấy lọc số 1 + P(g).

Giấy lọc số 2 + 2 g = giấy lọc số 1 + kết tủa + P'(g)

Thì hàm lượng tinh bột trong 100 g mẫu thực phẩm = $(P - P') \cdot 100$

CÂU HỎI ÔN TẬP

7.1. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả khi xác định hàm lượng đường trong một mẫu bằng phương pháp Bertrand.

7.2. Để xác định hàm lượng đường khử trong một mẫu đường mía, người ta lấy 50 gam đường mía hòa tan thành 100 ml dung dịch.

Cho 10 ml dung dịch Fehling A + 10 ml dung dịch Fehling B vào erlen 250 ml, đun sôi, xong lấy 10 ml dung dịch đường vừa pha cho vào và đun tiếp tục cho sôi thêm 2 phút.

Lấy xuống để nguội và lắng, lọc, rửa rửa nhiều lần xong hòa tan rửa bằng một lượng thừa $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, đem chuẩn độ toàn bộ dung dịch này bằng dung dịch KMnO_4 0,1N thì tiêu tốn hết 20 ml.

a. Viết các phương trình phản ứng xảy ra.

b. Xác định hàm lượng đường khử (qui ra glucoza) có trong mẫu đường đem phân tích (tính theo đơn vị % khối lượng).

Cho biết mối quan hệ giữa khối lượng Cu (xác định được bằng phản ứng chuẩn độ với dung dịch KMnO_4 0,1N) và khối lượng Glucoz như sau:

K. lượng Glucoz (mg)	50	55	60	65	70	75	80
Khối lượng Cu (mg)	95,4	104,1	112,8	121,3	129,8	137,9	146,1

Cho $\text{Cu} = 63,6$

7.3. Để xác định hàm lượng đường khử trong một mẫu thực phẩm, người ta lấy 5 gam thực phẩm hòa tan thành 100 ml dung dịch mẫu.

Cho 10 ml dung dịch Fehling A + 10 ml dung dịch Fehling B vào erlen 250 ml, đun sôi, xong lấy 5 ml dung dịch mẫu vừa pha cho vào và đun tiếp tục cho sôi thêm 2 phút.

Lấy xuống để nguội và lắng, rửa rửa nhiều lần xong hòa tan rửa bằng một lượng thừa $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, đem chuẩn độ toàn bộ dung dịch này bằng dung dịch KMnO_4 0,1N thì tiêu tốn hết 10 ml.

Xác định hàm lượng đường khử (qui ra glucoza) có trong mẫu thực phẩm đem phân tích (tính theo đơn vị % khối lượng).

7.4. Trình bày nguyên lý của phương pháp, cách thực hiện, cách tính kết quả khi xác định hàm lượng lactoza và saccaroza trong một mẫu sữa đặc có đường bằng phương pháp Bertrand.

7.5. Để kiểm nghiệm một mẫu sữa đặc có đường, người ta làm thí nghiệm như sau:

A. Dùng một chén cân có khối lượng 9,3687 g để cân 10,0000 g mẫu sữa, đem sấy đến khối lượng không đổi, để nguội, đem cân, khối lượng chén + mẫu là 13,3549 g. Sau đó đem đun, nung đến thành tro trắng ở 600°C, để nguội trong bình hút ẩm, đem cân được khối lượng tổng cộng là 9,4031 g. Tính:

- Độ ẩm của mẫu sữa.
- Hàm lượng tro toàn phần của mẫu sữa.

B. Để xác định hàm lượng đường lactoza và saccaroza trong một mẫu sữa nói trên, người ta cân 25,0g mẫu trong một chén cân, hòa tan bằng nước nóng, rửa sạch chén cân nhiều lần, cho tất cả vào bình định mức 100, thêm dung dịch khử tạp, lắc đều, để nguội, pha nước đến vạch 100. Đem lọc.

a. Lấy 10 ml dung dịch lọc này để xác định đường lactoza theo phương pháp Bertrand thì tiêu tốn hết 9,4 ml dung dịch KMnO_4 0,1N.

b. Lấy 10 ml dung dịch lọc trên, thêm HCl vào và đem thủy phân, xong đem định lượng toàn bộ đường khử bằng phương pháp Bertrand thì tiêu tốn hết 22,6 ml dung dịch KMnO_4 0,1N.

Xác định hàm lượng đường Lactoza và saccaroza có trong mẫu sữa đặc trên (tính theo %).

Cho biết mối quan hệ giữa thể tích dung dịch KMnO_4 0,1N dùng để chuẩn độ và lượng đường khử trong mẫu như sau:

Lượng đường, mg	V_{KMnO_4} 0,1N sử dụng, ml	
	Đường nghịch chuyển	Đường Lactoza
43	13,00	9,35
44	13,30	9,54
...
78	22,40	16,40
79	22,60	16,60
80	22,90	16,80

7.6. Để xác định hàm lượng đường lactoza và saccaroza trong một mẫu sữa đặc có đường, người ta làm thí nghiệm như sau:

Cân 25g mẫu trong một chén cân, hòa tan bằng nước nóng, rửa sạch chén cân nhiều lần, cho tất cả vào bình định mức 100, thêm dung dịch khử tạp, lắc đều, để nguội, pha nước đến vạch 100. Đem lọc.

a. Lấy 10 ml dung dịch lọc này để xác định đường lactoza theo phương pháp Bertrand thì tiêu tốn hết 9,4 ml dung dịch KMnO_4 0,1N.

b. Lấy 10 ml dung dịch lọc trên, thêm HCl vào và đem thủy phân, xong đem định lượng toàn bộ đường khử bằng phương pháp Bertrand thì tiêu tốn hết 12,5 ml dung dịch KMnO_4 0,1N.

Xác định hàm lượng đường Lactoza và saccaroza có trong mẫu sữa đặc trên (tính theo %).

Chương 8

ĐỊNH LƯỢNG LIPID

8.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ LIPID:

Lipid là tất cả các ester của glycerin với các acid béo no hoặc không no hoặc những amid của các acid béo.

Trong tế bào, lipid ở dạng tự do và liên kết. Lipid tự do tập trung chủ yếu ở các cơ quan dự trữ như hạt, quả (thực vật) và mô mỡ (ở động vật).

8.2. NGUYÊN NHÂN BỊ BIẾN CHẤT CỦA LIPID:

Dầu mỡ có thể bị hư hỏng do bị chua hoặc do bị ôi khê. Dầu mỡ bị chua thường do chất béo bị thủy phân và cho các acid béo tự do và glycerin. Dầu mỡ bị ôi khê do bị oxi hóa bởi oxi của không khí. Các oxi này kết hợp với các mạch carbon không bão hòa của dầu mỡ và cho các peroxyd không bền vững. Các peroxyd này bị phân hủy thành các aldehyd và ceton (làm cho dầu mỡ có mùi ôi khê), các acid oxiacid,.....

8.3. ĐỊNH LƯỢNG LIPID:

8.3.1. ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO BẰNG PHƯƠNG PHÁP SOXHLET:

1. Nguyên tắc:

Chiết rút lipid ra khỏi mẫu phân tích bằng các dung môi hữu cơ như ete etylic, ete dầu hỏa, cloroform, benzen,....

Có 2 phương pháp để xác định:

- Phương pháp xác định trực tiếp: chiết xuất lipid ra khỏi mẫu, cho dung môi bay hơi hết và cân trực tiếp lượng lipid chiết được.

- Phương pháp xác định gián tiếp: chiết xuất lipid ra khỏi mẫu, sấy khô và cân phần mẫu còn lại sau khi chiết hết lipid.

Lipid xác định bằng 1 trong 2 phương pháp trên gọi là lipid “thô” vì ngoài lipid còn có một số hợp chất khác như: vitamin hòa tan trong lipid, phosphatid, steroid,... cũng được chiết ra.

2. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị:

- *Nguyên liệu*: mẫu chứa lipid như đậu phộng hoặc hạt mè,... đã sấy khô tuyệt đối ở nhiệt độ 105°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm

Chuẩn bị bao đựng mẫu: cắt 1 mảnh giấy lọc có kích thước 8 x 10 cm gấp thành bao đựng mẫu, sấy khô bao ở nhiệt độ 105°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm, cân khối lượng bao (G_b).

- **Hóa chất** : Ete.

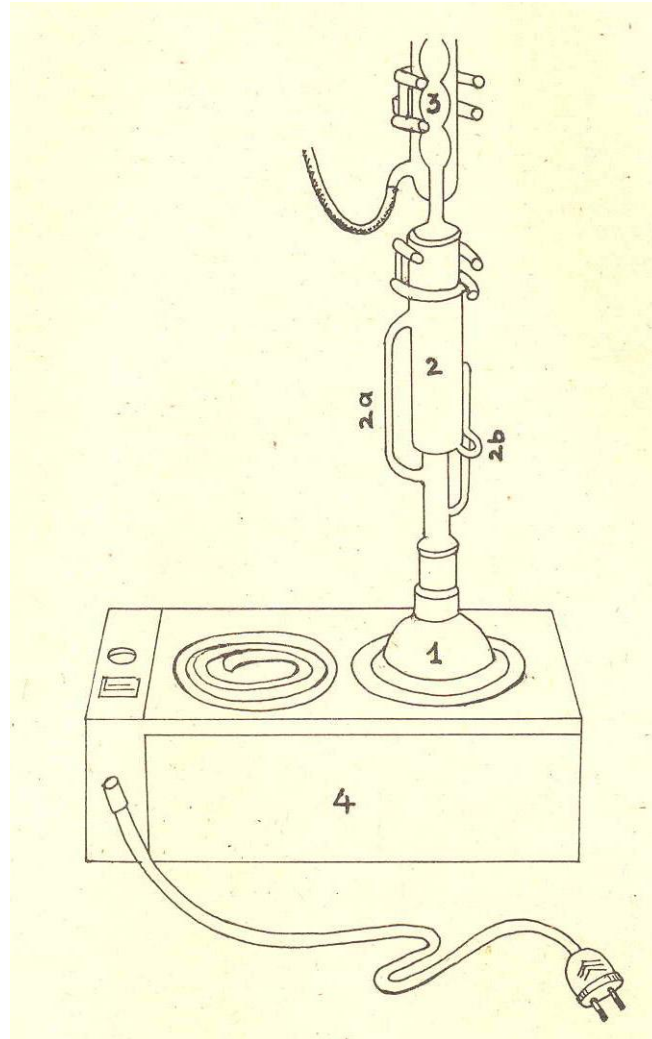
- **Thiết bị** : Máy Soxhlet.

3. Cách tiến hành:

a. Chuẩn bị mẫu để chiết rút lipid:

Cân 10g đậu phộng khô tuyệt đối đã nghiền nhỏ, chuyển sang bao giấy đã chuẩn bị, gấp miệng bao để tránh cho đậu khỏi bị rơi vãi, sấy lại bao đã đựng mẫu ở nhiệt độ 105°C trong 30 phút lấy ra để nguội trong bình hút ẩm, cân lại bao có chứa mẫu, xác định lại khối lượng bao mẫu (G_m).

b. Chuẩn bị mẫu trên máy Soxhlet:



Hình 8.1: Sơ đồ máy Soxhlet

1. Bình đun 2. Bình chiết 2a. Xi phong dẫn dung môi lên hệ thống sinh hàn
2b. Xi phong dẫn dung môi xuống bình đun 3. Hệ thống sinh hàn 4. Nồi cách thủy

Đặt bình đun (1) lên nồi cách thủy (4); lắp bình chiết (2) khớp với miệng của bình đun (1); đặt bao đựng mẫu vào đáy của bình chiết (2); lắp ống sinh hàn (3) khớp với miệng của bình chiết (2); đặt phễu thủy tinh lên miệng ống sinh hàn; lắp các ống cao su theo nguyên tắc bình thông nhau; mở máy nước để nước máy chảy vào hệ thống sinh hàn. Nếu áp suất nước không đủ mạnh để đẩy nước lên ống sinh hàn, cần phải hút nước ở đầu ống cao su cho nước chảy ra ngoài, sau đó kẹp đầu ống cao su cho nước tạm ngừng chảy. Đổ dung môi hữu cơ (ete) qua phễu thủy tinh sao cho lượng dung môi đủ ngập mẫu và chiếm khoảng 2/3 dung tích của bình đun (1).

c. Chiết rút lipid trên máy Soxhlet:

Bật bếp cách thủy ở nhiệt độ 45°C – 50°C để đun sôi dung môi hữu cơ ở bình đun (1). Khi dung môi trong bình đun (1) bắt đầu sôi, mở kẹp ống cao su cho nước lạnh chảy qua hệ thống sinh hàn làm ngưng đọng hơi dung môi chảy thành giọt xuống bình chiết chứa mẫu. Cần thận điều chỉnh kẹp sao cho dòng nước chảy từ từ ra ngoài.

Dung môi hữu cơ (ete) sôi trong điều kiện nhiệt độ 45°C – 50°C, chuyển thành dạng hơi, theo xi phông (2a) được dẫn lên phía trên của bình chiết (2) vào ống sinh hàn gặp lạnh, ngưng thành giọt chảy xuống bình chiết (2), hòa tan lipid trong nguyên liệu. Khi mức ete có chứa lipid trong bình chiết ngập xi phông (2b), ete chảy xuống bình đun (1). Ở bình đun (1) trong điều kiện nhiệt độ 45°C – 50°C, ete lại được đun sôi, tiếp tục theo xi phông (2a) lên phía trên của bình chiết, vào ống sinh hàn, lặp lại quá trình như trên. Thời gian chiết rút lipid trong khoảng từ 1 giờ 30 phút đến 2 giờ. Sau đó tháo bình chiết ra, hứng vài giọt ete trên lam kính, hơ nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn để hơi ete bay hết, soi kính, nếu lam kính trong suốt chứng tỏ mỡ trong nguyên liệu đã được chiết rút hết. Tắt bếp cách thủy, khóa nước máy, tháo ống sinh hàn, dùng đĩa thủy tinh gấp gói mẫu khỏi bình chiết, đặt trên đĩa petri để trong hotte hay nơi thoáng gió để dung môi hữu cơ bay hết. Sấy khô gói mẫu ở nhiệt độ 105°C cho đến khi khối lượng không đổi (khoảng 30 phút), để nguội trong bình hút ẩm, cân, xác định khối lượng gói mẫu đã chiết rút lipid ở độ khô tuyệt đối (Gc).

4. Tính kết quả:

$$X = 100 \frac{G_m - G_c}{G_m - G_b} (\%) \quad (7.1)$$

X : Hàm lượng lipid có trong nguyên liệu ở độ khô tuyệt đối (%).

G_m: Khối lượng gói mẫu ở độ khô tuyệt đối (gam).

G_c : Khối lượng gói mẫu đã chiết rút mỡ ở độ khô tuyệt đối (gam).

G_b : Khối lượng bao (gam)

8.3.2. ĐỊNH LƯỢNG LIPID TOÀN PHẦN THEO WEIBULL – STOLDT:

1. Nguyên lý:

Giải phóng lipid từ các hợp chất với protid và glucid, bằng cách thủy phân acid ở môi trường có cồn. Sau đó chiết lipid bằng phương pháp Soxhlet.

2. Dụng cụ, vật liệu thuốc thử:

- Dụng cụ vật liệu như phương pháp Soxhlet.
- HCl tinh khiết loại 1, tỷ trọng 1,19.

3. Cách thực hiện:

Cân thật chính xác khoảng 10 g chất thử, cho vào cốc thủy tinh dung tích 400 ml, thêm 100 ml nước cất, 60 ml acid clorhydric và mấy viên đá bọt hoặc bi thủy tinh để điều hòa độ sôi. Đun cách thủy trong 15 phút. Sau đó vừa khuấy vừa đun cho đến sôi. Đậy kín bằng mặt kính đồng hồ và tiếp tục đun sôi nhẹ trong nửa giờ.

Khi tất cả các chất albumin đều đã hòa tan, tráng mặt kính đồng hồ bằng nước sôi, hứng nước đó vào cốc. Đem lọc tất cả qua giấy lọc đã thấm ướt bằng nước lạnh và có chứa một ít cát sạch. Tráng cốc bằng một ít nước sôi, rồi cũng đem lọc nước đó. Lọc xong, để giấy lọc với cạn ráo hết nước, đem trải lên mặt kính đồng hồ, rồi sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C, trong 2 – 4 giờ. Cuộn cạn vào giấy lọc và cho vào ống chiết của máy Soxhlet, lắp máy và tiếp tục tiến hành như ghi ở phương pháp trên.

Chú ý tráng mặt kính đồng hồ bằng ête và cũng cho ête đó vào máy. Thời gian chiết là 2 giờ.

Tính kết quả cũng giống như phương pháp trên.

8.3.3. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH NHANH CHÓNG THEO GERBER (trường hợp định lượng bơ trong sữa):

1. Nguyên lý:

Hòa tan các chất không phải lipid bằng acid sulfuric. Ly tâm với sự có mặt của cồn amylic, lipid sẽ được tách thành một lớp. Đọc thể tích của lớp dung dịch lipid. Nếu dùng ống ly tâm đặc biệt cho phân tích sữa, thể tích của dung dịch lipid sẽ cho thẳng số g bơ trong mẫu sữa thí nghiệm.

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Acid sulfuric đậm đặc tỷ trọng 1,82.
- Cồn izoamylic không được có furfurol, tỷ trọng 0,815 và nhiệt độ sôi +130°C.

- Ống ly tâm (butyromet) đặc biệt cho phân tích sữa, chia vạch theo g lipid trong 1 lít sữa, thể tích của mỗi một vạch là $12,45\text{mm}^3$ có nút bằng cao su thật kín.
- Pipette đặc biệt cho phân tích sữa, thể tích 11 ml.
- Pipette xy lạnh (kiểu bơm tiêm) 10 ml dùng để hút acid sulfuric.
- Pipette sơ-ranh 1 ml dùng để hút cồn amylic
- Nồi cách thủy tương đối cao để có thể đặt thẳng butyromet ngập ở trong nồi.
- Máy ly tâm đặc biệt cho các ống butyromet, đường kính 40 – 60 cm, vòng quay 1000 – 1200 vòng/phút.

3. Cách thực hiện:

Đề butyromet lên giá và cho vào mỗi ống 1 ml acid sulfuric, tránh làm ướt miệng ống.

Hút sữa bằng pipette đặc biệt, nhỏ thật nhẹ và thật thông thả vào thành ống butyromet để tránh sự tiếp xúc đột ngột với acid.

Cho thêm thật nhẹ lên mặt sữa trong butyromet 1 ml cồn amylic.

Đóng nút cẩn thận và lắc cho đến khi casein (chất đậm trong sữa) tan hết. Đề butyromet đứng theo vị trí ban đầu, khi dung dịch dồn xuống hết phía dưới lại đảo ngược butyromet lên và khi dung dịch dồn hết lên trên lại đảo ngược lại, lặp lại tất cả 6 lần.

Chú ý nếu nhiệt độ trong butyromet giảm xuống (nhiệt độ này vào khoảng 80°C do sự tiếp xúc giữa acid và sữa), thì đặt butyromet vào nồi cách thủy 80°C trong 5 phút.

Ly tâm ngay tức khắc để tránh nhiệt độ giảm xuống. Nếu trường hợp nhiệt độ bị giảm xuống, đề butyromet vào nồi cách thủy 80°C trong 5 phút. Ly tâm 1000 – 1250 vòng/phút trong 5 phút.

Sau đó cho butyromet vào trong nồi cách thủy theo hướng thẳng đứng, nút ở phía dưới và điều chỉnh nút sao cho dung dịch lipid ở vào vị trí có chia vạch của butyromet. Để nhiệt độ $65 - 70^{\circ}\text{C}$ trong 5 phút.

Lấy ra đọc kết quả ngay, kết quả phải đọc trong vòng 10 giây, nếu để quá thời gian đó phải cho lại vào nồi cách thủy, rồi lấy ra đọc kết quả ngay.

Số thể tích giữa các vạch của butyromet là số g lipid (bơ) trong một lít sữa.

8.3.4. PHƯƠNG PHÁP ADAM – ROSE – GOTTLIEB:

Áp dụng nhanh chóng cho các thực phẩm lỏng.

1. Nguyên lý:

Ở môi trường amoniac và cồn, chiết xuất lipid bằng ête và ête dầu hỏa. Để bay hơi hết ête và ête dầu hỏa, cân lipid và từ đó tính ra hàm lượng lipid trong 100 g thực phẩm.

Amoniac có nhiệm vụ hòa tan protein, làm thay đổi sức căng mặt ngoài của các chất béo, cắt dây nối giữa béo – đạm và sau cùng làm ête hỗn hợp với sữa dễ hơn. Ete còn gọi là ête thường hay ête sulfuric, có tính chất hòa tan lipid nhưng cũng hòa tan các chất khác như nước và các chất hòa tan trong nước như lactoza, muối khoáng,.... Do đó người ta phải dùng thêm ête dầu hỏa.

Ete dầu hỏa ít hút nước hơn ête thường, có tính chất đẩy nước và các chất hòa tan trong nước ra khỏi ête thường, làm cho ête thường chỉ chứa có chất béo và ête dầu hỏa. Người ta cũng không thể dùng ête dầu hỏa thay ête thường được vì ête dầu hỏa không hòa tan các chất béo có chứa nước.

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Bình lắng gạn.
- Chén thủy tinh hoặc cốc cân có nút mài.
- Bình hút ẩm.
- Cân phân tích.
- Tủ sấy.
- Ete thường.
- Ete dầu hỏa.
- Dung dịch nước màu cochenille (cosoni) hoặc d.d. phenolphthalein 1%.
- Dung dịch cồn amoniac:

* Cồn 90°	208,5 ml
* NH ₄ OH đậm đặc	7,5 ml
* Nước cất vừa đủ	250 ml

3. Cách tiến hành:

Cho vào bình lắng gạn:

* Thực phẩm	10 ml
* Dung dịch cồn amoniac	10 ml
* Ete	11 ml
* Dung dịch nước màu cochenille hoặc 1 giọt dung dịch PP.	

Lúc đầu lắc khẽ, sau lắc mạnh dần và cuối cùng lắc thật mạnh. Để yên trong 30 phút, trong bình sẽ chia làm hai lớp:

- Lớp dưới là lớp amoniac hòa tan protid và các thành phần khác của thực phẩm.

- Lớp trên là ête hòa tan chất béo và có lẫn một số chất khác.

Tách lấy lớp ête, bỏ lớp dung dịch amoniac hoặc giữ lấy để định lượng protid theo phương pháp kết tủa bởi acid. Cho thêm vào lớp ête 10 ml ête dầu hỏa, lắc thật mạnh, rồi để yên 15 phút, các chất không phải là chất béo sẽ tách và lắng xuống dưới đáy bình lắng gạn, được dồn vào lớp dung dịch amoniac.

Chuyển hết phần ête vào chén thủy tinh đã sấy khô, cân sẵn theo phương pháp cân kép. Rửa bình lắng gạn hai lần, mỗi lần với 5 ml ête và dồn hết cả vào chén thủy tinh. Để bốc hết hơi ête ở nhiệt độ thường, sau đó cho vào tủ sấy 105°C trong 30 phút. Lấy ra, để vào bình hút ẩm cho đến nguội và cân.

4. Tính kết quả:

Bì = chén thủy tinh + P (g)

Bì = chén thủy tinh có chứa lipid + P' (g)

Hàm lượng chất béo trong 100 g thực phẩm, X(g):

$$X = 100 \cdot \frac{P - P'}{G} (\%) \quad (7.2)$$

Trong đó G là khối lượng của thực phẩm cân ban đầu để định lượng, g.

8.4. CÁC KIỂM NGHIỆM XÁC ĐỊNH TÍNH CHẤT ĐẶC HIỆU CỦA DẦU MỠ:

8.4.1. Xác định tỷ trọng:

1. Định nghĩa:

Tỷ trọng của một chất là tỷ số giữa khối lượng riêng của chất ấy với khối lượng riêng của nước cất ở cùng một nhiệt độ.

2. Các phương pháp đo tỷ trọng:

a. Đo tỷ trọng bằng cân Mohr – Wesphal:

b. Đo tỷ trọng bằng bình đo tỷ trọng (picnomet)

Rửa bình đo picnomet thật sạch bằng nước cất, tráng với cồn, rồi với ête. Để ête bay hơi hết và bình đã thật khô, cân bình không (theo nguyên tắc cân kép).

Bì = bình không + P (g).

Cho nước cất đã làm lạnh ở nhiệt độ cao hơn quy định và điều chỉnh thể tích bằng cách cho mức nước đến vạch đúng lúc nhiệt độ đến nhiệt độ quy định. Cân.

Bì = bình có chứa nước đến vạch qui định + P' (g).

Chú ý đừng để nước dính ở phía ngoài bình đo làm cho khối lượng tăng lên và sai kết quả.

Đổ nước, tráng bằng cồn rồi bằng ête, để ête bay hơi hết và khi bình đo đã thật khô, cho dầu vào bình đo đến thể tích quy định và nhiệt độ quy định, cân.

Bì = Bình có dầu (cùng thể tích với nước) + P'' (g)

Tính kết quả:

$$\text{Tỷ trọng } d = \frac{P - P''}{P - P'} \quad (7.3)$$

8.4.2. Xác định chỉ số khúc xạ:

1. Định nghĩa:

Chỉ số khúc xạ hay chỉ số chiết quang của một chất là tỷ số giữa vận tốc ánh sáng trong không khí chia cho vận tốc ánh sáng trong chất đó. Nó cũng là tỷ số giữa sin góc tới chia cho sin góc khúc xạ của những tia sáng từ trong không khí truyền qua.

Nhiệt độ quy định là nhiệt độ mà chất đó lỏng hoàn toàn. Với dầu, nhiệt độ quy định là 20°C, với mỡ nhiệt độ quy định là 40°C, 60°C hay 80°C tùy theo từng loại.

Chỉ số khúc xạ được đo trên dầu mỡ không có nước và đã lọc bỏ cặn.

2. Phương pháp đo chỉ số khúc xạ

a. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Natri sulfat khan.
- Hệ thống lọc nhanh.
- Ête dầu hỏa.
- Khăn lau mềm
- Khúc xạ kế Abbe với hệ thống điều chỉnh nhiệt độ.

b. Cách tiến hành:

Lọc chất thử để có dung dịch trong suốt, nếu chất thử có nước thì lắc với natri sulfat khan, sau đó lọc lấy dịch lọc.

Lau sạch 2 lăng kính của khúc xạ kế bằng ête dầu hỏa rồi lau khô bằng khăn mềm. Chính lý hệ thống điều chỉnh nhiệt độ đến nhiệt độ quy định. Nhỏ trực tiếp hoặc dùng đũa thủy tinh đưa một giọt chất thử vào giữa mặt phẳng của lăng kính. Áp hai lăng kính lại với nhau, chờ từ 2 đến 3 phút để nhiệt độ của giọt chất thử đến

nhệt độ quy định, nhìn vào thị kính và dịch chuyển thị kính để tìm được đường phân chia rõ nhất giữa nửa tối và nửa sáng của trường quan sát. Điều chỉnh đường phân chia sao cho trùng với đường chấm chấm hay tâm của vòng tròn quan sát.

Đọc kết quả trên thang đo ở phía ghi chỉ số khúc xạ. Làm lại nhiều lần, mỗi lần cần kiểm tra bảo đảm vẫn ở đúng nhiệt độ quy định.

8.4.3. Xác định chỉ số xà phòng hóa:

1. Định nghĩa:

Chỉ số xà phòng hóa là số mg KOH cần thiết để trung hòa các acid tự do và xà phòng hóa các este chứa trong 1 g mẫu thử.

2. Phương pháp xác định chỉ số xà phòng hóa:

a. Nguyên lý:

Cho mẫu thử kết hợp với một lượng KOH thừa để các chất béo chuyển thành xà phòng. Phần KOH thừa được định lượng bằng một dung dịch acid chuẩn, với P.P. làm chỉ thị màu.

b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Máy cất có ống sinh hàn hồi lưu, có mối nối nhám.
- Dung dịch KOH 0,5N trong cồn 95°.
- Dung dịch acid HCl 0,5N trong nước.
- Dung dịch P.P. 1% trong nước.

c. Cách thực hiện:

Cân chính xác khoảng 2 g mẫu thử, cho vào bình cầu của máy cất, với 25 ml dung dịch KOH 0,5N trong cồn. Lắp ống sinh hàn hồi lưu vào bình cầu và đun cách thủy sôi nhẹ trong khoảng từ 30 phút đến 1 giờ cho đến khi phản ứng xà phòng hóa kết thúc (xác định được khi thấy dung dịch trong bình vẫn trong suốt và đồng đều không biến đổi khi pha loãng với nước).

Song song làm một mẫu trắng không có chất thử với 25 ml dung dịch KOH 0,5N trong cồn và tiến hành trong cùng điều kiện như trên.

Ngay sau khi xà phòng hóa hoàn toàn, pha loãng mỗi bình với 25 ml nước mới đun sôi để nguội, thêm vào mỗi bình 1 ml dung dịch 1 ml Phenolphthalein 1% và định lượng bằng dung dịch acid HCl 0,5N cho đến mất màu.

d. Tính kết quả:

Chỉ số xà phòng hóa I_x được tính theo công thức:

$$I_x = 56,1 \cdot \frac{N_A \cdot (V_t - V_{mt})}{c} \quad (7.4)$$

Trong đó:

56,1: đương lượng gam của KOH.

N_A : Nồng độ đương lượng của HCl.

V_t : số ml dung dịch HCl sử dụng trong mẫu kiểm tra trắng.

V_{mt} : số ml dung dịch HCl sử dụng trong mẫu cần thử.

c : khối lượng mẫu thử tính bằng g.

8.4.4. Xác định chỉ số acid:

1. Định nghĩa:

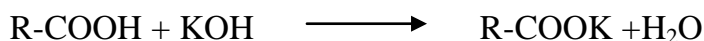
Chỉ số acid là số mg KOH cần thiết để trung hòa các acid tự do chứa trong 1 g mẫu thử.

2. Phương pháp xác định chỉ số acid :

a. Nguyên lý:

Dùng dung dịch KOH 0,1N để trung hòa các acid tự do trong chất cần phân tích, với Phenolphthalein làm chất chỉ thị. Dựa vào lượng KOH sử dụng để tính chỉ số acid.

Phương trình phản ứng:



b. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.
- Cồn 95° trung tính.
- Ete trung tính.
- Dung dịch KOH 0,1N .
- Dung dịch Phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

c. Cách tiến hành:

Cân chính xác khoảng 5 g dầu mỡ, hòa tan trong 50 ml hỗn hợp gồm 25 ml cồn và 25 ml ete trung tính, lắc đều cẩn thận. Nếu chất béo chưa tan hết có thể đun nhẹ hỗn hợp trên nồi cách thủy, lắc đều. Làm nguội.

Cho 2 giọt chỉ thị Phenolphthalein và chuẩn độ hỗn hợp bằng dung dịch KOH 0,1N trong cồn (dùng dung dịch KOH trong cồn để tránh xảy ra sự xà phòng hóa trong trường hợp hỗn hợp chứa từ 20% acid béo trở lên) cho đến khi xuất hiện màu hồng tươi (trường hợp chất béo có màu thẫm thì dùng chỉ thị thymolphthalein 1% trong cồn, chuẩn độ cho đến màu xanh).

Đối với các chất có chỉ số acid dưới 1, định lượng bằng microburet.

d. Tính kết quả:

Chỉ số acid I_a được tính theo công thức:

$$I_a = 56,1 \cdot \frac{N_B \cdot V_B}{c} \quad (7.5)$$

Trong đó:

56,1 là đương lượng gam của KOH.

V_B , N_B là thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch KOH đã sử dụng trong định lượng.

c là khối lượng mẫu thử tính bằng g.

8.4.5. Xác định chỉ số este:

Chỉ số este là số mg KOH cần thiết để xà phòng hóa các este chứa trong 1 g chất thử.

Chỉ số este I_e là hiệu giữa chỉ số xà phòng và chỉ số acid.

$$I_e = I_x - I_a \quad (7.6)$$

8.4.6. Xác định chất không xà phòng hóa:

1. Định nghĩa:

Chất không xà phòng hóa là những chất không kết hợp với hydroxyt kiềm để cho xà phòng, không hòa tan trong nước, không bay hơi ở 100°C.

2. Các phương pháp xác định chất không xà phòng hóa:

a. Phương pháp chiết suất bằng ê te dầu hỏa:

α. Nguyên lý:

Sau khi xà phòng hóa mẫu cần thử bằng KOH, dung dịch còn lại sẽ chứa xà phòng, glycerin và chất không bị xà phòng hóa. Chiết xuất chất không xà phòng hóa bằng một dung môi không hòa tan trong nước. Để bay hơi hết dung môi và cân chất không xà phòng hóa còn lại.

β. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dung dịch KOH 2N trong cồn.
- Ê te dầu hỏa (độ sôi 40°C đến 60°C). Phải cất lại khi có cặn không bay hơi.
- Cồn 50°.
- Dung dịch chỉ thị màu helianthine 0,1%.
- HCl 0,1N.

- Máy cất có ống sinh hàn hồi lưu.
- Bình lắng gạn dung tích 200 ml. Tránh bôi mỡ và vaseline vào khóa và mối nối nhám.

γ. Tiến hành thử:

Cân chính xác khoảng 5g chất thử, cho vào bình cầu của máy cất. Cho thêm 50 ml dung dịch KOH 2N trong cồn. Lắp ống sinh hàn ngược và đun sôi trong bình cách thủy trong 1 giờ, thỉnh thoảng lại lắc đều. Sau đó, đổ thẳng từ phía trên ống sinh hàn xuống 50 ml nước cất. Lắc đều và để nguội.

Chuyển toàn bộ dung dịch sang bình lắng gạn. Tráng bình cầu 5 – 6 lần với ê te dầu hỏa, dùng toàn bộ hết khoảng 50ml ê te dầu hỏa và cho cả vào bình lắng gạn. Lắc mạnh trong 1 – 2 phút. Để yên cho đến khi tách hoàn toàn thành hai lớp rõ rệt. Nếu có bọt bền vững, cho thêm vài ml cồn hay dung dịch NaOH 50%.

Rút lớp nước ở dưới và chiết xuất lần thứ hai với 50 ml ê te dầu hỏa và cũng như thế chiết xuất lần thứ ba. Đồn cả ba lần dịch chiết ê te dầu hỏa vào một bình lắng gạn khác và rửa ba lần với mỗi lần 50 ml cồn 50°, nhớ rút hết lớp cồn ra trước khi rửa lần thứ hai, rồi lần thứ ba.

Lấy một bình cầu dung tích 150ml sấy khô, để nguội và cân. Rút lớp dịch chiết ê te dầu hỏa vào bình cầu này và tráng bình lắng gạn với 20 – 30 ml ê te dầu hỏa. Cất bỏ lớp ê te ở nồi cách thủy sôi, khi còn lại một ít ê te, để bay hơi ở nhiệt độ thường. Cuối cùng để nằm nghiêng trong tủ sấy 100°C trong 15 phút, để nguội trong bình hút ẩm và cân. Làm như thế cho đến khi trọng lượng không đổi. Nếu sau ba lần sấy như vậy (45 phút) mà trọng lượng không thay đổi quá 0,10% thì kỹ thuật phân tích coi như đạt yêu cầu, nếu không, có thể nghi có chất không xà phòng hóa lạ lẫn vào.

Chất không xà phòng hóa phải không được chứa lẫn xà phòng. Muốn cho kết quả chính xác, khi tính toán phải trừ phần xà phòng lẫn vào. Xác định xà phòng lẫn vào bằng cách hòa tan chất không xà phòng hóa vào một ít cồn tuyệt đối hoặc ete dầu hỏa, chuyển hết vào một chén nung, để bay hơi, nung thành tro trắng. Hòa tan tro vào 2 – 3 ml nước cất sôi, chuyển tất cả vào một erlen. Tráng chén nung 2 – 3 lần với 1 ml nước nóng. Thêm một giọt dung dịch helianthine và chuẩn độ độ kiềm bằng dung dịch HCl 0,1N cho đến màu hồng.

δ. Tính kết quả:

Hàm lượng chất không xà phòng hóa trong mẫu thử $X_1(\%)$ được tính theo công thức:

$$X_1 = \frac{(p' - 0,032n)}{p} 100(\%) \quad (7.7)$$

Trong đó:

p : khối lượng mẫu thử dùng để kiểm nghiệm, g

p' : khối lượng chất không xà phòng hóa trong mẫu thử, g.

n : số ml HCl 0,1N sử dụng để định lượng độ kiềm của tro.

0,032(g) là khối lượng xà phòng (oleat kali) tương ứng với 1 ml HCl 0,1N

b. Phương pháp chiết bằng Oxytetyl (ete thường).

α. Nguyên lý:

Cũng như phương pháp trên.

β. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dung dịch KOH 1N trong cồn.
- Oxyt êtyl (ete thường).
- Dung dịch KOH 0,5N trong nước.
- Acêton.
- Dung dịch phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

γ. Tiến hành thử:

Cân chính xác khoảng 5g chất thử cho vào bình cầu của máy cất và xà phòng hóa với 50 ml KOH 1N pha trong cồn trong 1 giờ, trên nồi cách thủy sôi. Chuyển sang bình lắng gạn và tráng bình bằng 100 ml nước cất nóng. Tập trung nước tráng vào bình lắng gạn. Để yên một lúc cho đến khi dung dịch còn hơi nóng, dùng 100 ml ete tráng bình cầu để chiết chất không xà phòng hóa bằng cách lắc mạnh. Chiết thêm hai lần nữa, mỗi lần với 100 ml ete. Tập trung tất cả dịch chiết ete vào một bình lắng gạn khác với 40 ml nước. Quay nhẹ bình mà không lắc để cho hai lớp phân tách nhau ra rõ ràng và trút bỏ lớp nước. Rửa hai lần nữa, mỗi lần với 40 ml nước bằng cách lắc mạnh và hai lần với mỗi lần 40 ml dung dịch KOH 0,5N trong nước, cuối cùng rửa lại hai lần, mỗi lần với 40 ml nước. Nước rửa cuối cùng không được cho màu đỏ với phenolphtalein nếu không lại phải rửa lại cho đến khi nước rửa không kiềm nữa.

Chuyển dịch chiết ete sang một bình cầu đã sấy khô, cân sẵn, tráng bình lắng gạn bằng 40 ml ete, chuyển hết sang bình cầu. Cất để loại bớt ete trên nồi cách thủy sôi. Khi ete bay hơi gần hết, cho thêm 6 ml acêton và dùng một luồng không khí nhẹ đuổi hết dung môi ra khỏi bình (bình để nghiêng trong nồi cách thủy sôi). Cuối cùng sấy khô như đã ghi ở phương pháp trên, để nguội và cân.

Hòa tan cạn 20 ml cồn êtylic trung tính mới đun sôi, chuẩn độ bằng dung dịch KOH 0,1N trong cồn với phenolphtalein làm chỉ thị màu. Nếu thể tích dung dịch

KOH 0,1N sử dụng quá 0,1ml phải làm lại định lượng chất không xà phòng hóa từ đầu.

Đ. Tính kết quả:

Hàm lượng chất không xà phòng hóa $X_2(g)$ trong 100g chất thử:

$$X_2 = \frac{P'}{P} 100(\%) \quad (7.8)$$

Trong đó:

p' : khối lượng chất không xà phòng hóa, g.

p : khối lượng mẫu thử dùng để kiểm nghiệm, g.

8.5. KIỂM NGHIỆM XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG HƯ HỎNG CỦA DẦU MỠ.

Muôn xác định dầu mỡ có bị chua, ôi khê không, cần xác định độ chua, chỉ số peroxyd, phản ứng aldehyd,....

8.5.1. Xác định độ chua:

Nguyên lý:

Hòa tan dầu mỡ vào một hỗn dịch ete và cồn, chuẩn độ bằng dung dịch NaOH hay KOH với phenolphthalein làm chỉ thị màu (xem phần xác định chỉ số acid).

8.5.2. Xác định chỉ số peroxyd:

1. Nguyên lý:

Ở môi trường acid, peroxyd giải phóng iod từ muối Kali iodur ở nhiệt độ nóng hoặc lạnh. Chuẩn độ iod được giải phóng ra thể tự do bằng một dung dịch natri tiosulfat

2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Acid acêtic tinh khiết.
- Cloroform tinh khiết.
- Kali iodur tinh thể dùng để pha dung dịch bão hòa khi dùng (10g Kali iodur hòa tan vào 10 ml nước cất).
- Dung dịch natri tiosulfat 0,002N.
- Dung dịch hồ tinh bột.
- Máy cát có lắp ống sinh hàn hồi lưu.
- Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm.

3. Cách tiến hành:

- **Phương pháp lạnh:** Cho một luồng khí CO₂ khô vào một bình nón có nút nhám dung tích 250 ml đã sấy khô, trong 10 – 15 phút. Cho ngay thật nhanh một lượng chất thử (khoảng 1g) cân trong một ống nghiệm nhỏ, đóng nhanh nút lại. Thêm 10 ml cloroform (mỗi lần cho thêm thuốc thử đều phải đóng nhanh nút để tránh không khí vào bình thay thế khí CO₂), lắc đều để hòa tan. Cho 15 ml acid acêtic và 1 ml dung dịch bão hòa Kali iodur, lắc đều, đóng kín nút lại và để ở chỗ tối trong 5 phút. Sau đó cho thêm 75 ml nước cất đã đun sôi để nguội, lắc thật mạnh, và chuẩn độ iod giải phóng ra thể tự do bằng dung dịch natri tiosulfat 0,002N với dung dịch hồ tinh bột làm chỉ thị màu. Gần kết thúc giai đoạn chuẩn độ cứ nhỏ 1 giọt thuốc thử lại lắc thật mạnh.

Song song làm một mẫu trắng với cùng điều kiện kỹ thuật, thao tác, nhưng không có chất thử.

- **Phương pháp nóng:** Cho vào bình cầu của máy cất 10 ml acid acêtic và 10 ml cloroform. Lắp ống sinh hàn và đặt lên nồi cách thủy sôi cho đến khi thấy hơi cloroform bay đến tận cổ dưới của ống sinh hàn (mục đích là đuổi hết không khí ra).

Cho 1 ml dung dịch Kali iodur bão hòa từ phía trên ống sinh hàn xuống và tráng bằng 6 giọt nước cất. Nhấc nhanh ống sinh hàn ra và cho nhanh 1 giọt chất thử đựng trong ống đáy ống nghiệm. Đóng ngay ống sinh hàn lại và tiếp tục đun trong đúng 5 phút. Lấy bình cầu ra và làm lạnh ngay dưới vòi nước lạnh. Thêm 50 ml nước cất đã đun sôi để nguội và chuẩn độ iod được giải phóng ra bằng dung dịch natri tiosulfat 0,002N với dung dịch hồ tinh bột làm chỉ thị màu.

Song song làm một mẫu trắng với cùng một điều kiện kỹ thuật thao tác nhưng không có chất thử.

4. Tính kết quả:

a) Chỉ số peroxyt X (có thể tính bằng số ml natri tiosulfat 0,002N cần thiết để chuẩn độ iod do peroxyd của 1g chất thử giải phóng ra thể tự do từ muối kali iodur)

$$X = N - n \quad (7.9)$$

Trong đó: N là số ml Natri tiosulfat 0,002N dùng để chuẩn độ chất thử.

n : là số ml natri tiosulfat dùng để chuẩn độ mẫu trắng.

b) Chỉ số peroxyt X (có thể biểu thị bằng số milimol peroxyt trong 1 Kg chất thử):

$$X = \frac{0,05(N-n).1000}{500P} \quad (7.10)$$

Trong đó:

0,05 là số milimol peroxyt tương ứng với 1 ml natri tiosulfat chuẩn (dung dịch 1N).

N là số ml Natri tiosulfat 0,002N dùng để chuẩn độ chất thử.

n : là số ml natri tiosulfat dùng để chuẩn độ mẫu trắng.

P là khối lượng của mẫu thử dùng để định lượng, g.

500 là hệ số chuyển từ dung dịch 0,002N sang dung dịch 1N.

c) Chỉ số peroxyt X có thể biểu thị bằng số g iod được giải phóng ra thể tự do từ muối Kali iodur bởi 100g chất thử

$$X = \frac{0,0002538.(N-n).100}{P} \quad (7.11)$$

Trong đó 0,0002538 là số g iod tương ứng với 1 ml natri tiosulfat 0,002N.

d) Chỉ số peroxyt (có thể biểu thị bằng chỉ số LEA nghĩa là số microgam oxy trong 1g chất thử).

$$\text{Chỉ số LEA} = \frac{80(N-n)}{5P} \quad (7.12)$$

Trong đó: hệ số 80 là số microgam oxy tương ứng với 1 ml dung dịch natri tiosulfat 0,01N.

Hệ số 5 cho chuyển từ dung dịch 0,01N sang dung dịch 0,002N.

8.5.3. Phản ứng Aldehyd (phản ứng Kreiss).

Phản ứng xác định aldehyd, còn gọi là phản ứng Kreiss, là phản ứng xác định aldehyd epiphyric (epialdehyd). Ở môi trường acid, epialdehyd kết hợp với Floroglucin thành một hợp chất màu đỏ .

1. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Acid clohydric đậm đặc $d = 1,19$.
- Dung dịch floroglucin 1% trong êter.
 - + Floroglucin 1g
 - + Eter vừa đủ 100 ml
- Ống nghiệm.

2. Cách thực hiện:

Cho vào ống nghiệm 5g chất thử và 10 ml acid clohydric. Bịt kín và lắc mạnh trong 30 giây. Cho thêm 10 ml dung dịch floroglucin 1%, lắc mạnh.

Nếu có epialdehyd thì lớp acid clohydric ở dưới có màu hồng đến màu đỏ (phản ứng Kreiss dương tính). Tùy mức độ ta đánh dấu – hoặc +, ++, +++,.....

CÂU HỎI ÔN TẬP.

8.1. Trình bày nguyên lý, cách thực hiện, cách tính kết quả của phương pháp Soxhlet khi xác định hàm lượng chất béo tự do trong một mẫu thực phẩm.

8.2. Trình bày nguyên lý, cách thực hiện, cách tính kết quả của phương pháp Adam khi xác định hàm lượng chất béo tự do trong một mẫu thực phẩm.

8.3. Lấy một mẫu đậu phộng đã sấy khô tuyệt đối có khối lượng 5,3127g cho vào một bao giấy, xong đem chiết rút lipid bằng ete rồi sấy khô đến khối lượng không đổi và cân, khối lượng cân được là 5,2134g.

Xác định hàm lượng lipid trong mẫu đậu phộng nói trên (tính theo đơn vị % khối lượng).

8.4. Trình bày định nghĩa, nguyên lý, cách tiến hành để xác định chỉ số xà phòng hóa, chỉ số acid và chỉ số ester một mẫu lipid.

8.5. Để xác định chỉ số xà phòng hóa, chỉ số acid và chỉ số ester của một mẫu lipid, người ta làm thí nghiệm như sau:

a. Cân 10,0000g mẫu thử, cho vào bình cầu của máy cất với 10 ml dung dịch KOH 0,1 N trong cồn + 200 ml nước cất. Lắp ống sinh hàn hồi lưu vào bình cầu và đun cách thủy sôi nhẹ cho đến khi phản ứng xà phòng hóa kết thúc. Để nguội, pha loãng với 25 ml nước cất, thêm vào 2 giọt PP 1% sau đó chuẩn độ bằng dung dịch HCl 0,1N thì tiêu tốn hết 5 ml.

Làm lại thí nghiệm như trên nhưng không có mẫu thử thì thể tích HCl 0,1N dùng chuẩn độ là 9 ml.

b. Cân 5,0000g mẫu thử, hòa tan trong 25 ml cồn 90° và 25 ml ete trung tính, lắc đều, thêm 2 giọt PP, xong đem chuẩn độ bằng NaOH 0,05N thì tiêu tốn hết 2 ml.

Xác định chỉ số xà phòng hóa, chỉ số acid và chỉ số ester của mẫu lipid trên.

8.6. Để xác định tỷ trọng của một mẫu lipid người ta làm thí nghiệm như sau:

Dùng một bình picnomet có khối lượng là 20,1467 g, đổ đầy nước vào rồi đem cân, khối lượng cân được là 25,7985 g. Đổ hết nước, tráng bình bằng cồn rồi bằng ête, để thật khô rồi đổ đầy mẫu lipid vào, lau thật sạch bên ngoài xong đem cân, khối lượng cân được là 24,99760 g. Tính tỷ trọng của mẫu lipid trên.

PHẦN THỰC HÀNH

Bài 1:**XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM CỦA MỘT MẪU BÁNH NGỌT****1.1. Nguyên lý:**

Cân một lượng mẫu bánh đã nghiền nhỏ trước và sau khi sấy đến khối lượng không đổi, chênh lệch khối lượng giữa 2 lần cân chính là lượng nước có trong mẫu. Từ kết quả này ta tính ra phần trăm khối lượng nước trong mẫu.

1.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Tủ sấy điều chỉnh được nhiệt độ (đến 130°C).
- Cân phân tích chính xác đến 0,0001g (0,1mg).
- Bình hút ẩm, phía dưới để chất hút ẩm (H₂SO₄ đậm đặc, Na₂SO₄ khan, CaCl₂ khan,.....)
- Cốc cân thủy tinh có đáy bẹt và nắp nhôm kín.
- Đũa thủy tinh một đầu dẹp dài khoảng 5cm.

1.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 7):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Sấy cốc, nắp đậy (gọi chung là cốc), đũa thủy tinh đến khối lượng không đổi. Để nguội, đem cân được khối lượng cốc + đũa là G.
- Cho mẫu bánh đã nghiền nhỏ vào cốc, đậy nắp, đem cân cốc + mẫu + đũa. Khối lượng của cốc + đũa + mẫu là G₁.
- Đem sấy cốc + mẫu + đũa vừa cân khoảng 3 giờ (trong quá trình sấy khoảng 30 phút lấy mẫu ra, nhanh chóng dùng đũa này đảo trộn đều xong đưa vào sấy tiếp ngay), làm nguội, đem cân, ghi kết quả.
- Cho cốc + mẫu + đũa vào sấy tiếp trong 30 phút, làm nguội, cân. Tiếp tục sấy lại như trên cho đến khi kết quả cân được không đổi. Khối lượng cốc + mẫu + đũa sau khi sấy là G₂.

1.4. Kết quả:**1.4.1. Kết quả thô:**

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

G (g)	G ₁ (g)	G ₂ (g)				
		Lần 1	Lần 2	Lần	Lần n	Lần cuối

1.4.2. Tính kết quả:

Độ ẩm X₁(%) của mẫu thí nghiệm tính bằng công thức:

$$X_1 = 100 \cdot \frac{G_1 - G_2}{G_1 - G} (\%)$$

Bài 2:**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TOÀN PHẦN CỦA MẪU BÁNH NGỌT****2.1. Nguyên lý:**

Xác định khối lượng của mẫu bánh đã nghiền nhỏ trước và sau khi nung thành tro trắng ở 550 – 600°C. Từ kết quả cân được ta tính ra phần trăm của tro toàn phần có trong mẫu bánh.

2.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Chén nung bằng sứ hoặc bằng kim loại (Nikel hoặc bạch kim).
- Đèn cồn hay bếp điện.
- Lò nung điều chỉnh được nhiệt độ (550 – 600°C).
- Cân phân tích.
- Bình hút ẩm, phía dưới để chất hút ẩm.
- H₂O₂ 10 thể tích hoặc HNO₃ đậm đặc.

2.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 9):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Nung chén nung + nắp đậy (gọi chung là chén) ở khoảng 550 - 600°C trong 10 phút. Để nguội, đem cân. Khối lượng của chén là G.
- Cho khoảng 20g mẫu bánh đã nghiền nhỏ vào chén, đậy nắp, đem cân chén + mẫu. Khối lượng của chén + mẫu là G₁.
- Cho toàn bộ phần vừa cân vào lò nung ở 550 – 600°C khoảng 3 giờ. Làm nguội, đem cân, ghi kết quả khối lượng chén + tro.
- Nếu thấy tro chưa trắng, cho thêm H₂O₂ 10 thể tích hoặc HNO₃ đậm đặc vào chén cho đến khi tro được làm ướt đều. Cho vào lò nung tiếp cho đến khi được tro trắng. Làm nguội, cân. Khối lượng chén + tro là G₂.

Chú ý:

Tiến hành làm song song 2 mẫu thí nghiệm, tro thu được trong 2 thí nghiệm này phải giữ kỹ để làm bài thí nghiệm sau.

2.4. Kết quả:**2.4.1. Kết quả thô:**

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

	G (g)	G₁ (g)	G₂ (g)
Mẫu 1			
Mẫu 2			

2.4.2. Tính kết quả:

Hàm lượng tro toàn phần tính theo phần trăm $X_1(\%)$ của mẫu thí nghiệm tính bằng công thức:

$$X_1 = 100 \cdot \frac{G_2 - G}{G_1 - G} (\%)$$

Bài 3:**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO KHÔNG TAN TRONG HCl, ĐỘ KIỂM CỬA TRO CỦA MẪU BÁNH NGỌT**

Tro làm trong bài thí nghiệm này được lấy từ 2 mẫu tro của bài thí nghiệm số 2, mẫu 1 làm cho thí nghiệm phần 3.1 và mẫu 2 làm cho phần 3.2

3.1. Xác định hàm lượng tro không tan trong HCl:**3.1.1 Nguyên lý:**

Hòa tan tro toàn phần của mẫu trong dung dịch HCl, sau đó đem lọc. Rửa phần tro không tan nhiều lần bằng nước cất, nung và cân, từ đó tính ra % tro không tan.

3.1.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Nồi cách thủy.
- Lò nung điều chỉnh nhiệt độ được 550 – 600°C.
- Phễu.
- Bình hút ẩm.
- Chén sứ.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc không tro.
- Dung dịch HCl 4N.
- HNO₃ đậm đặc.
- AgNO₃ 0,1N.

3.1.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 11):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Hòa tan tro trong 25 ml dung dịch HCl 4N, cho vào nồi cách thủy đun trong 15 phút.
- Đem lọc hỗn hợp vừa đun cách thủy trên giấy lọc không tro. Rửa phần tro không tan nhiều lần bằng nước cất đun sôi để nguội cho đến khi nước qua giấy lọc không còn Cl⁻ (thử bằng dung dịch AgNO₃ và HNO₃).

- Sấy chén nung, nắp đậy (gọi chung là chén) đến khối lượng không đổi. Để nguội, đem cân được khối lượng chén là G' .
- Cho giấy lọc và phần tro không tan trong HCl vào chén nung, đậy nắp, đem sấy ở 105°C cho đến khô.
- Cho toàn bộ chén vừa sấy vào nung ở $550 - 600^{\circ}\text{C}$ trong 30 phút. Để nguội, đem cân. Khối lượng chén + tro không tan trong HCl là G_3 .

3.1.4. Kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

G (g)	G_1 (g)	G' (g)	G_3 (g)

Trị số G và G_1 lấy từ mẫu thí nghiệm 1 của Bài 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TOÀN PHẦN CỦA MẪU BÁNH NGỌT

b. Tính kết quả:

Hàm lượng tro không tan trong HCl $X_3(\%)$ được tính theo công thức:

$$X_3 = 100 \cdot \frac{G_3 - G'}{G_1 - G} (\%)$$

3.2. Xác định độ kiềm của tro:

3.2.1 Nguyên lý:

Hòa tan tro toàn phần trong một lượng acid thừa để trung hòa hết kiềm của tro, sau đó chuẩn độ lượng acid thừa bằng một dung dịch kiềm chuẩn. Từ đó xác định độ kiềm của tro trong mẫu.

3.2.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Nồi cách thủy.
- Erlen dung tích 100 – 150 ml.
- Burette.
- Nước cất.
- H_2SO_4 0,5N.
- NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Phenolphthalein 1% trong cồn 90° .

3.2.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 12):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Hòa tan tro toàn phần trong chén nung bằng một thể tích $V_A = 20$ ml dung dịch H_2SO_4 có nồng độ $N_A = 0,5N$.
- Đun nóng trên nồi cách thủy sôi 10 – 15 phút, chuyển dung dịch vào erlen. Rửa sạch chén nung nhiều lần với nước cất cho đến khi nước rửa không còn phản ứng acid với giấy quỳ. Nước rửa tập trung hết vào erlen, để nguội.
- Cho vài giọt phenolphthalein vào dung dịch trong erlen này và chuẩn độ bằng dung dịch $NaOH$ có nồng độ $N_B = 0,1N$ cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt. Đọc thể tích V_B sử dụng.

3.2.4. Kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

G (g)	G₁(g)	V_A(ml)	N_A	V_B(ml)	N_B

Trị số G và G_1 lấy từ mẫu thí nghiệm 2 của Bài 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TOÀN PHẦN CỦA MẪU BÁNH NGỌT

b. Tính kết quả:

Độ kiềm của tro $X_4(\%)$ được tính theo công thức:

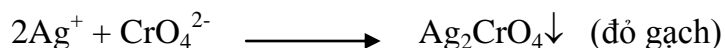
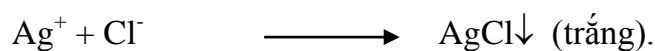
$$X_4 = 100 \cdot \frac{N_A \cdot V_A - N_B \cdot V_B}{G_1 - G} (\%)$$

Trong đó G , G_1 là trọng lượng mẫu bánh ngọt (mẫu 2 của bài thí nghiệm 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TOÀN PHẦN).

Bài 4:**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MUỐI ĂN TRONG MẪU NƯỚC MẮM****4.1 Nguyên lý:**

Chuẩn độ dung dịch mẫu bằng dung dịch AgNO_3 trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu ($\text{pH} = 6,5 - 10,5$) với chất chỉ thị là K_2CrO_4 . Khi Ag^+ tác dụng hết Cl^- trong mẫu chuẩn độ sẽ tiếp tục phản ứng với CrO_4^{2-} tạo kết tủa màu đỏ gạch, phản ứng chuẩn độ kết thúc.

Các phản ứng xảy ra:



Dựa vào nồng độ và thể tích của dung dịch AgNO_3 dùng, người ta tính hàm lượng của muối ăn (NaCl) trong mẫu.

4.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Erlen dung tích 200 – 250 ml
- Bình định mức dung tích 100 ml.
- Phễu.
- Burette.
- Pipette có bầu 10 ml, một hoặc hai vạch.
- Giấy lọc.
- Dung dịch AgNO_3 0,1N.
- CaCO_3 .
- HNO_3 loãng.
- K_2CrO_4 10% trong nước trung tính.
- Dung dịch NaHCO_3 0,01N và dung dịch acid acêtic 0,01N.
- Dung dịch phenolphthalein 1% trong etanol 60%.

4.3. Cách tiến hành:**4.3.1. Chuẩn bị mẫu phân tích:**

Dung dịch để xác định các chỉ tiêu hóa học là nước mắm nguyên được pha loãng 20 lần. Cách tiến hành như sau: lắc kỹ chai đựng mẫu thử, lọc tất cả nước

mắm qua giấy lọc vào một bình sạch, khô. Dùng pipette lấy chính xác lấy $V = 10\text{ml}$ nước mắm đã lọc và chuyển vào một bình định mức có thể tích $V_{\text{dm}} = 200\text{ml}$. Thêm nước cất đến vạch mức, lắc đều.

Dung dịch này chỉ được sử dụng trong thời gian 4 giờ kể từ khi pha xong.

4.3.2. Xác định hàm lượng muối ăn NaCl trong mẫu phân tích:

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Dùng pipette lấy $V_{\text{dm}} = 5\text{ml}$ nước mắm đã pha loãng cho vào erlen 150. Cho tiếp 20ml nước cất, 0,5ml phenolphtalein.
 - Nếu dung dịch trong erlen không màu thì dùng natri hydro carbonat 0,01N để trung hòa cho đến khi dung dịch có màu hồng. Sau đó nhỏ acid acêtic 0,01N cho đến khi mất màu hồng.
 - Nếu dung dịch trong erlen có màu hồng thì dùng acid acêtic 0,01N trung hòa cho đến khi mất màu.
- Thêm 0,5 ml dung dịch kali cromat.
- Dùng dung dịch AgNO_3 có nồng độ $C_N = 0,1\text{N}$ chuẩn dung dịch trong erlen đến khi toàn bộ dung dịch có màu đỏ nâu bền vững. Khi gần đến điểm tương đương phải thêm thật chậm AgNO_3 vào từng giọt một và lắc dung dịch chuẩn độ thật mạnh.
- Ghi thể tích V_{tt} của dung dịch AgNO_3 dùng trong chuẩn độ.

Làm tối thiểu 3 thí nghiệm.

4.4. Kết quả:

4.4.1. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

	Thí nghiệm 1	Thí nghiệm 2	Thí nghiệm 3	Trị số trung bình
V(ml)				
V_{dm}(ml)				
V_{cd}(ml)				
V_{tt}(ml)				
C_N				

4.4.2. Tính kết quả:

Hàm lượng muối ăn NaCl trong mẫu X(mg/1000 ml mẫu) được tính bằng công thức:

$$X = 1000 \cdot \frac{58,5 \cdot C_N \cdot V_{tt}}{V} \cdot \frac{V_{dm}}{V_{cd}} \quad (\text{mg/1.000 ml mẫu})$$

Trong đó:

58,5 : Phân tử lượng của NaCl.

C_N : Nồng độ đương lượng của dung dịch AgNO₃.

V_{tt} : Thể tích dung dịch AgNO₃ dùng trong chuẩn độ, ml.

V : Thể tích mẫu nước mắm ban đầu lấy đem chuẩn bị mẫu thử, ml.

V_{dm} : Thể tích dung dịch mẫu pha trong bình định mức, ml.

V_{cd} : Thể tích dung dịch mẫu lấy đi chuẩn độ, ml.

Bài 5:**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ACID TỔNG SỐ, ACID CỐ ĐỊNH, ACID ĐỂ BAY HƠI TRONG MẪU NƯỚC TRÁI CÂY****5.1. Xác định hàm lượng acid tổng số:****5.1.1 Nguyên lý:**

Dùng một dung dịch kiềm chuẩn (NaOH hoặc KOH) để trung hòa hết các acid trong thực phẩm, với phenolphtalein làm chỉ thị màu.

5.1.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia.
- Dung dịch NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Dung dịch phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

5.1.3. Cách tiến hành:**a. Chuẩn bị mẫu thử:**

Nếu mẫu nước trái cây có màu sáng, có thể lấy trực tiếp V ml mẫu đem đi chuẩn độ trực tiếp. Nếu mẫu có màu sẫm, lấy V ml mẫu pha loãng với nước trung tính hoặc cồn trung tính để dễ nhận điểm chuyển màu khi chuẩn độ.

b. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 19):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Dùng pipette lấy $V = 20\text{ml}$ mẫu nước trái cây cho vào erlen 150.
 - Nếu dung dịch trong erlen có màu sáng, thêm vào erlen vài giọt phenolphtalein.
 - Nếu dung dịch trong erlen có màu sẫm, pha loãng dung dịch mẫu này với nước trung tính hoặc cồn trung tính cho đến khi màu dung dịch nhạt bớt đi (thường pha loãng 2 hoặc 3 lần). Thêm vào erlen 2 - 4 giọt phenolphtalein.

- Lắc đều, đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH có nồng độ $C_B = 0,1N$ cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt bền vững, dùng chuẩn độ lại.
- Ghi thể tích V_B của dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

Làm lại thí nghiệm tối thiểu 3 lần.

5.1.4. Kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

- Thể tích dung dịch mẫu dùng trong thí nghiệm: $V =$ (ml)
- Thể tích dung dịch NaOH dùng trong thí nghiệm: $V_B =$ (ml)

Thí nghiệm 1	Thí nghiệm 2	Thí nghiệm 3	Trị số trung bình

b. Tính kết quả:

Độ acid toàn phần X_1 (mg acid/100 ml mẫu) được tính bằng công thức:

$$X_1 = K.V_B.N_B \cdot \frac{100}{V} \text{ (mg acid/100 ml mẫu)}$$

Trong đó:

V_B , N_B : thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

V : thể tích dung dịch mẫu lấy đi chuẩn độ, ml

K : hệ số của loại acid.

Với các loại nước trái cây, độ acid toàn phần được tính theo acid citric. Trong trường hợp này $K = 64$

5.2. Xác định hàm lượng acid cố định:

5.2.1 Nguyên lý:

Cô đến cạn mẫu nước trái cây ở nồi cách thủy sôi để các acid dễ bay hơi bốc hết, hòa tan cạn vào nước cất trung tính và chuẩn độ bằng một dung dịch kiềm chuẩn với Phenolphthalein làm chỉ thị màu.

5.2.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia.
- Dung dịch NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Nồi cách thủy.
- Dung dịch phenolphtalein 1% trong cồn 90°.

5.2.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 23):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Dùng pipette lấy $V = 20\text{ml}$ mẫu nước trái cây cho vào erlen 150.
- Cô cạn dịch nước trái cây trong erlen này trên nồi cách thủy sôi.
- Lấy erlen ra, để nguội.
- Cho vào erlen này khoảng 20 ml nước cất trung tính để hòa tan cặn còn lại trong erlen. Thêm vào erlen 2 - 4 giọt phenolphtalein, lắc đều.
- Đem chuẩn độ dung dịch trong erlen bằng dung dịch NaOH có nồng độ $C_B = 0,1\text{N}$ cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt bền vững, dùng chuẩn độ lại.
- Ghi thể tích V_B của dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

Làm lại thí nghiệm tối thiểu 3 lần.

5.2.4. Kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

- Thể tích dung dịch mẫu dùng trong thí nghiệm: $V =$ (ml)
- Thể tích dung dịch NaOH dùng trong thí nghiệm: $V_B =$ (ml)

Thí nghiệm 1	Thí nghiệm 2	Thí nghiệm 3	Trị số trung bình

b. Tính kết quả:

Độ acid cố định X_2 (mg acid/100 ml mẫu) tính bằng công thức:

$$X_2 = K \cdot N_B \cdot V_B \cdot \frac{100}{V} \quad (\text{mg acid/100 ml mẫu})$$

Trong đó:

V_B , N_B : thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

V : thể tích dung dịch mẫu lấy đi làm thí nghiệm, ml

K : hệ số của loại acid.

Với các loại nước trái cây, độ acid toàn phần được tính theo acid citric. Trong trường hợp này $K = 64$

5.3. Xác định hàm lượng acid dễ bay hơi:**5.3.1 Nguyên lý:**

Các acid dễ bay hơi trong mẫu nước trái cây được tách ra bằng phương pháp cất kéo hơi nước rồi cho ngưng tụ lại trong một cốc thủy tinh. Chuẩn độ dung dịch ngưng tụ này bằng một dung dịch kiềm với phenolphthalein làm chỉ thị màu.

5.3.2. Dụng cụ, hóa chất sử dụng:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia.
- Dụng cụ cất acid dễ bay hơi bằng hơi nước (hình 5.1 trang)
- Dung dịch NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.
- Dung dịch phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

5.3.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 21):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Dùng pipette lấy $V = 20\text{ml}$ mẫu nước trái cây cho vào bình chứa của dụng cụ cất acid dễ bay hơi.
- Thêm nước cất vào để được thể tích dung dịch khoảng 50 ml.

- Đun nhẹ bình chứa dung dịch này đồng thời cho hơi nước sục vào dung dịch trong bình.
- Tiếp tục cất cho đến khi lượng dịch cất thu được khoảng 300 ml.
- Đun đến vừa sôi dịch cất để loại CO₂.
- Để nguội dịch cất, thêm vào 2 - 4 giọt phenolphthalein, lắc đều.
- Chuẩn độ dịch cất này bằng dung dịch NaOH có nồng độ C_B = 0,1N cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt bền vững, dùng chuẩn độ lại.
- Ghi thể tích V_B của dung dịch NaOH sử dụng.

Làm lại thí nghiệm tối thiểu 3 lần.

5.3.4. Kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

- Thể tích dung dịch mẫu dùng trong thí nghiệm: V = (ml)
- Thể tích dung dịch NaOH dùng trong thí nghiệm: V_B = (ml)

Thí nghiệm 1	Thí nghiệm 2	Thí nghiệm 3	Trị số trung bình

b. Tính kết quả:

Độ acid dễ bay hơi X₃ (mg acid/100 ml mẫu) tính bằng công thức:

$$X_3 = K \cdot N_B \cdot V_B \cdot \frac{100}{V} \text{ (mg acid/100 ml mẫu)}$$

Trong đó:

V_B , N_B : thể tích (ml) và nồng độ đương lượng dung dịch NaOH dùng trong chuẩn độ.

V : thể tích dung dịch mẫu lấy đi làm thí nghiệm, ml

K : hệ số của loại acid.

Với các loại nước trái cây, độ acid toàn phần được tính theo acid citric. Trong trường hợp này K = 64

Bài 6:**ĐỊNH LƯỢNG PROTID THÔ TRONG MẪU NƯỚC MẮM BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL****6.1. Nguyên lý:**

Vô cơ hóa mẫu nước mắm bằng cách đun nóng mẫu với H_2SO_4 đậm đặc cùng chất xúc tác, sản phẩm thu được là dung dịch $(NH_4)_2SO_4$. Dùng NaOH để đuổi NH_3 ra khỏi dung dịch này bằng cách cất và thu NH_3 bằng một lượng dư dung dịch H_2SO_4 chuẩn, sau đó phần H_2SO_4 chuẩn dư sẽ được chuẩn độ bằng dung dịch NaOH chuẩn.

6.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia.
- Bình Kjeldahl.
- Bếp đun
- Bộ chưng cất Kjeldahl (hình 6.1 hoặc 6.2 trang 30)
- H_2SO_4 đậm đặc ($d = 1,84$).
- Chất xúc tác:

K_2SO_4	50 g.
$CuSO_4$	3,5g
- NaOH 50% ($d = 1,33$) , không chứa carbonat.
- Chỉ thị màu Tashiro gồm:
 - Dung dịch A: Metil đỏ 0,10 g
Cồn 95° vừa đủ 100 ml.
Hòa tan ở nồi cách thủy sôi.
 - Dung dịch B: Dung dịch Metilen xanh 1% trong nước 4 ml.
Cồn 95° vừa đủ 100 ml

Khi dùng pha 1 thể tích dung dịch A với 1 thể tích dung dịch B.

Hỗn hợp chỉ thị màu này có màu xanh lục ở $pH > 5,5$, chuyển thành tím ở $pH < 5,5$. Chuyển màu ở giai đoạn màu xám bản ($pH = 5,5$). Trong trường hợp chuyển màu không rõ ràng, có thể thay đổi tỷ lệ pha chế giữa hai dung dịch để làm sao, khi chuyển màu thì màu xanh lục giảm từ từ và một giọt dung dịch chuẩn NaOH 0,1 N làm màu chuyển sang xám bản đột ngột và thêm một giọt nữa màu chuyển sang tím.

- Dung dịch Acid boric có pH = 5,5.

Acid boric	40 g.
Nước cất vừa đủ	1000 ml.

Hòa tan 40 g acid boric vào trong một ít nước nóng, sau khi để nguội, cho thêm nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh đến pH = 5,5 bằng NaOH 0,1N với hỗn hợp chỉ thị màu Tashiro cho đến màu xám bản (khoảng 13 ml).

- Dung dịch chuẩn H_2SO_4 0,1 N hoặc HCl 0,1 N.
- Natri hyposulfit tinh khiết ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) hoặc natri hypophosphit (NaH_2PO_4).

6.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 31):

- Vệ sinh dụng cụ thí nghiệm.
- Dùng pipette lấy $V = 10\text{ml}$ mẫu nước mẫu cho vào bình Kjeldahl.
- Thêm vào bình Kjeldahl 10 ml H_2SO_4 đậm đặc và khoảng 1g hỗn hợp CuSO_4 và K_2SO_4 (1 : 3).
- Thêm nước cất vào để được thể tích dung dịch khoảng 50 ml.
- Để nghiêng bình Kjeldahl trên bếp và đun từ từ cho đến khi dung dịch sôi. Tiếp tục đun cho đến khi dung dịch trong suốt, không màu hoặc có màu xanh lơ của CuSO_4 . Để nguội.
- Chuyển dung dịch đã vô cơ hóa vào bình cầu của máy cất đạm, rửa bình Kjeldahl 2 lần với nước cất, nước rửa chuyển vào bình cầu.
- Trung hòa dung dịch trong bình cầu bằng NaOH 50% với chất chỉ thị màu là Tashiro), sau đó cho thêm 5 ml NaOH 50%.
- Tiến hành cất kéo hơi nước dung dịch trong bình trên bằng cách đun nhẹ bình chứa dung dịch đồng thời cho hơi nước sục vào dung dịch trong bình.
- Hơi nước ngưng tụ và NH_3 bay ra được hấp thu bằng một lượng thừa dung dịch H_2SO_4 có $N_A = 0,1\text{N}$ chứa trong erlen, lưu ý đầu ống thiết bị ngưng tụ phải được cắm ngập sâu trong dung dịch.
- Khi nước ngưng tụ đi ra không còn NH_3 (thử bằng giấy pH), ngưng cất và lấy erlen ra.
- Thêm vào erlen 2 - 4 giọt phenolphthalein, lắc đều.

- Chuẩn độ dung dịch này bằng dung dịch NaOH có nồng độ $C_B = 0,1N$ cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt bền vững, dùng chuẩn độ lại.
- Ghi thể tích V_B của dung dịch NaOH sử dụng.

6.4. Tính kết quả:

6.4.1. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

V(ml)	V_A (ml)	N_A	V_B (ml)	N_B

6.4.2. Tính kết quả:

Hàm lượng nitơ toàn phần X (mg/100 ml mẫu) tính bằng công thức:

$$X = 14.(N_A V_A - N_B V_B) \frac{100}{V} \text{ (mg/100 ml mẫu)}$$

Trong đó:

N_A , V_A : nồng độ đương lượng và thể tích dung dịch H_2SO_4 cho vào erlen trước để kết hợp với NH_3 .

N_B , V_B : nồng độ đương lượng và thể tích dung dịch NaOH dùng để chuẩn độ H_2SO_4 thừa.

V : Thể tích mẫu lấy đi làm thí nghiệm, ml.

Bài 7:**ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TRONG MẪU THỰC PHẨM BẰNG
PHƯƠNG PHÁP STUTZER - BARNSTEIN.****7.1. Nguyên lý:**

Dùng nước để chiết protein trong thực phẩm sau đó kết tủa protein ở dịch chiết bằng CuSO_4 . Tách kết tủa, rửa sạch và định lượng ni tơ toàn phần trong kết tủa bằng phương pháp Kjeldahl.

7.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia,...
- Cân phân tích.
- Phễu và giấy lọc.
- Dung dịch CuSO_4 :

- CuSO_4	60 g
- Nước cất vừa đủ	1000ml
- Dung dịch NaOH:

- NaOH	12,5 g
- Nước cất vừa đủ	1000ml
- Dung dịch Kali ferocyanur:

- Kali ferocyanur	5 g
- Nước cất vừa đủ	100ml
- Dung dịch BaCl_2 :

- BaCl_2	10 g
- Nước cất vừa đủ	100ml

6.3.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau:

- Cân thật chính xác khoảng $P = 10\text{g}$ mẫu thực phẩm đã nghiền nhuyễn, cho vào cốc thủy tinh với 50 ml nước cất. Đun sôi.
- Cho vào dịch chiết 25 ml dung dịch CuSO_4 sau đó vừa khuấy vừa cho từ từ 25 ml dung dịch NaOH.

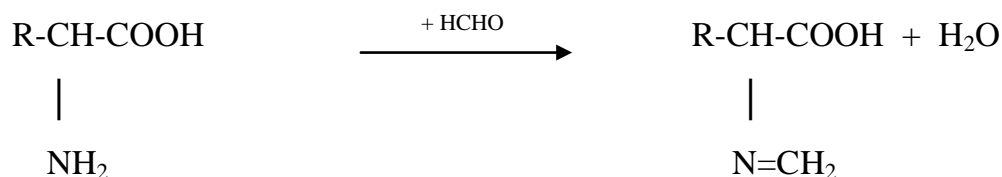
- Sau khi để kết tủa lắng yên, nước ở phía trên phải có phản ứng kiềm (thử với giấy quỳ) và phải có thừa Cu^{++} (phản ứng lên màu nâu với Kali ferocyanur).
- Gạn lọc bỏ lớp nước trên qua giấy lọc.
- Rửa tủa bằng nước cất và gạn lọc bỏ lớp nước trên qua giấy lọc.
- Khi nước lọc không còn Cu^{++} (thử bằng dung dịch Kali ferocyanur) hoặc SO_4^- (thử bằng dung dịch BaCl_2), đổ hết cả tủa lẫn nước trên giấy lọc. Tráng cốc nhiều lần với nước cất và đổ hết lên giấy lọc.
- Để ráo nước, cho kết tủa protein cùng với giấy lọc vào bình Kjeldahl và tiến hành định lượng ni tơ trong kết tủa theo phương pháp Kjeldahl.
- Tiến hành tiếp như bài 6.

6.4. Tính kết quả:

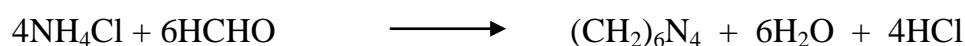
(Như bài 6)

Bài 8:**ĐỊNH LƯỢNG NITƠ ACID AMIN – ĐỊNH LƯỢNG NITƠ FORMOL.****8.1. Nguyên lý:**

Khi gặp formol (HCHO), nhóm $-NH_2$ của acid amin kết hợp với formol thành nhóm $-N=CH_2$ mất tính chất kiềm, làm cho nhóm $-COOH$ nổi bật lên và có thể được định lượng bằng một chất kiềm với P.P. làm chất chỉ thị.



Cần lưu ý các muối amonium (như NH_4Cl) ở dung dịch trung tính khi gặp formol cũng làm cho dung dịch trở thành acid do hình thành hexametylen tetramin và HCl theo phản ứng:



Do đó cũng định lượng được bằng một chất kiềm.

Do đó nếu trong mẫu thử có cả acid amin lẫn muối amonium thì nitơ formol là tổng của nitơ acid amin và nitơ amonium. Muốn có nitơ acid amin ta phải trừ đi nitơ amonium.

8.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Các dụng cụ thông thường dùng trong phân tích thể tích ở phòng thí nghiệm như : pipette, burette, erlen, becher, bình tia,...
- Formol trung tính. Trước khi sử dụng, formol cần được trung hòa bằng NaOH 0,2N với chất chỉ thị là P.P.
- Dung dịch phenolphthalein 1% trong cồn 90°.
- Dung dịch dinatri phosphat 0,1N (chứa 17,91g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ / lít)
- Dung dịch NaOH 0,2N.
- Dung dịch $Ba(OH)_2$ bão hòa trong cồn metylic.
- $BaCl_2$ tinh thể.

6.4.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 35):

- Dùng pipette lấy chính xác $V = 20$ ml mẫu nước mắm cho vào bình định mức có thể tích $V_{dm} = 100$ ml với 50 ml nước cất, lắc mạnh trong 10 phút để hòa tan.
- Cho thêm vào bình 8 - 10 giọt phenolphtalein, khoảng 2g $BaCl_2$ và từng giọt $Ba(OH)_2$ cho đến khi có màu hồng nhạt.
- Thêm tiếp 5 ml $Ba(OH)_2$ để kết tủa các muối phosphat và carbonat.
- Cho nước cất vừa đủ 100 ml. Lắc đều và lọc.
- Lấy một thể tích $V_{cd} = 25$ ml dịch lọc, cho vào erlen với 20 ml dung dịch formol trung tính xong đem chuẩn độ bằng NaOH có nồng độ $N_B = 0,2N$ cho đến màu đỏ tươi ($pH = 9 - 9,5$). Đọc thể tích V_B của dung dịch NaOH sử dụng.
- Làm thêm 2 thí nghiệm nữa từ dung dịch lọc phần trên. Ghi kết quả.

6.4.4. Tính kết quả:

a. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

V(ml)	$V_{dm}(ml)$	$V_{cd}(ml)$	N_B

Thể tích dung dịch NaOH dùng trong thí nghiệm: $V_B =$ (ml)

V_B			
Thí nghiệm 1	Thí nghiệm 2	Thí nghiệm 3	Trị số trung bình

b. Tính kết quả:

Hàm lượng nitơ formol X(mg/100 ml chất thử):

$$X = 14 \cdot N_B \cdot V_B \cdot \frac{V_{dm}}{V_{cd}} \cdot \frac{100}{V} \text{ (mg/100 ml mẫu)}$$

Bài 9:**ĐỊNH LƯỢNG ĐƯỜNG LACTOZA VÀ SACCAROZA TRONG SỮA ĐẶC CÓ ĐƯỜNG****9.1. Nguyên lý:**

Lactoza là đường khử nên có thể định lượng trực tiếp bằng phương pháp Bertrand. Từ số ml KMnO_4 0,1 N dùng để chuẩn độ FeSO_4 hình thành trong thí nghiệm, tra bảng để có số mg đường lactoza có trong mẫu sữa đặc.

Saccaroza không có tính chất khử nên phải thủy phân thành glucoza và fructoza, sau đó tiến hành định lượng hai loại đường khử này. Từ kết quả định lượng trước và sau khi thủy phân mẫu có thể tính được hàm lượng đường lactoza và saccaroza trong mẫu sữa đặc có đường.

9.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Dụng cụ, vật liệu thông thường trong phòng thí nghiệm như: pipet, buret các loại, erlen, bêcher, phễu, giấy lọc,.....
- Cân phân tích.
- Phễu lọc thủy tinh G_4 .
- Nồi cách thủy.
- Nhiệt kế đo được đến 100°C .
- Dung dịch NaOH 20% ; 10% ; 1%.
- HCl tinh khiết ($d = 1,19$).
- Dung dịch khử tạp : Chì acêtat 30% hoặc Kali ferrocyanur 15% và kẽm acêtat 30%.
- Thuốc thử Fehling gồm:

Thuốc thử Fehling A:

- CuSO_4 tinh thể 69,28 g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml

Lắc kỹ cho tan, nếu không tan thì cho thêm acid sulfuric và lắc kỹ.

Thuốc thử Fehling B:

- Kali natri tartrat 346 g
- NaOH 100 g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml

Hòa tan 346 g kali natri tartrat trong 400 – 500 ml nước cất. Mặt khác, hòa tan 100 g NaOH trong 200 – 300 ml nước cất. Trộn hai dung dịch với nhau và thêm nước cất vừa đủ 1000 ml.

- Dung dịch sắt (III) sulfat :

- $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 50 g
- H_2SO_4 đậm đặc 200g
- Nước cất vừa đủ 1000 ml.

Hòa tan sắt (III) sulfat trong một lượng nước đủ để tan. Thêm vào từ từ, vừa cho vừa lắc đều 200 g acid sulfuric đậm đặc, để nguội và thêm nước vừa đủ 1000ml. Dung dịch này không được chứa sắt (II) oxyt hoặc sắt (II) muối do đó cần oxy hóa sắt (II) bằng cách nhỏ dung dịch KMnO_4 0,1 N vào cho đến khi có màu phớt hồng.

- Dung dịch KMnO_4 0,1 N.

- Dung dịch phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

9.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 41):

9.3.1. Chuẩn bị mẫu thử:

- Cân chính xác khoảng $P = 25$ g mẫu sữa đặc có đường trong chén cân.
- Hòa tan lượng sữa vừa cân vào một ít nước nóng, đổ vào bình định mức dung tích $V_1 = 100$ ml.
- Rửa chén cân với một ít nước nóng, nước rửa dồn tất cả vào bình định mức.
- Cho nước cất nguội đến khoảng ba phần tư bình, lắc đều.
- Thêm 10 ml dung dịch chỉ acetat hoặc 5 ml dung dịch kali ferrocianur 15% và 5 ml dung dịch kẽm acetat 30% để khử tạp chất, lắc mạnh đều, làm nguội dưới vòi nước chảy.
- Trung hòa acid hữu cơ có trong dung dịch mẫu bằng dung dịch NaOH 10% đến pH 7 (kiểm tra bằng giấy pH).
- Thêm nước đến vạch định mức.
- Lắc đều, lọc.
- Lấy $v_1 = 10$ ml dung dịch lọc này cho vào bình định mức A có thể tích $V_2 = 100$ ml và pha thêm nước cất đến vạch định mức.

- Lấy $v_2 = 50$ ml dung dịch lọc cho vào bình định mức B có thể tích $V_3 = 100$ ml và pha thêm nước cất đến vạch định mức (dùng để định lượng đường saccarosa).

9.3.2. Cách thực hiện:

A. Định lượng lactoza:

- Cho vào erlen 250 ml:

Dung dịch Fehling A	10 ml
Dung dịch Fehling B	10 ml
- Đun sôi. Cho $v_3 = 10$ ml dung dịch trong bình A và khoảng 20 ml nước cất. Sau 3 phút toàn bộ dung dịch phải sôi.
- Giữ cho sôi đúng 2 phút kể từ khi bắt đầu sôi lại.
- Lấy bình ra và để nghiêng cho cặn đồng (I) oxyt lắng xuống. Dung dịch bên trên lớp cặn phải có màu xanh của đồng (II) hydroxyd.
- Khi kết tủa đồng (I) oxyd lắng xuống, gạn lấy phần nước bên trên và lọc qua phễu có lót giấy lọc.
- Cho nước đã đun sôi vào erlen và tiếp tục gạn lọc vào phễu cho đến khi nước trong bình erlen hết màu xanh. Trong quá trình gạn lọc chú ý tránh dùng để cho kết tủa rơi vào phễu và luôn luôn giữ một lớp nước đã đun sôi trên mặt kết tủa trong erlen và trong phễu.
- Lần gạn lọc cuối cùng, gạn hết nước và cho ngay vào erlen 20 ml dung dịch sắt (III) sulfat để hòa tan kết tủa đồng (I) oxyt.
- Rút hết nước trên phễu.
- Thay erlen cũ bằng bình mới. Đổ dung dịch sắt (III) sulfat đã hòa tan hết kết tủa đồng (I) oxit trong erlen lên trên lớp cặn còn lại trên phễu.
- Tráng erlen và rửa phễu bằng dung dịch sắt (III) sulfat cho đến khi không còn vết đồng (I) oxyt trong erlen và phễu.
- Cho nước chảy xuống hết bình lọc và rửa lại bằng nước cất đun sôi, hút cả xuống bình lọc. Chú ý là chỉ dùng khoảng 30 – 50 ml sắt (III) sulfat để hòa tan kết tủa đồng (I) oxyt, tráng bình và rửa phễu.
- Lấy bình lọc ra và chuẩn độ dung dịch sắt (II) hình thành bằng dung dịch KMnO_4 0,1 N cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 15 giây.
- Ghi thể tích n_1 (ml) của dung dịch KMnO_4 0,1 N dùng.

6.4.4. Tính kết quả:**a. Kết quả thô:**

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

P(g)	V₁(ml)	v₁(ml)	V₂(ml)	v₃(ml)	n₁(ml)

b. Tính kết quả:

Từ thể tích n_1 (ml) của dung dịch KMnO_4 0,1 N dùng, tra bảng ta biết được lượng đường lactoza G (mg) có trong thể tích v_3 .

Hàm lượng lactoza X_1 (g) trong 100 g sữa đặc có đường:

$$X_1 = \frac{G \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{v_1 \cdot v_3 \cdot P \cdot 1000} \text{ (g/100g sữa đặc)}$$

B. Định lượng saccaroza:

Thực hiện các bước tương tự như trong phần định lượng đường lactoza, lượng mẫu làm thí nghiệm lấy trong bình B với thể tích là $v_4 = 10\text{ml}$.

- Ghi thể tích n_2 (ml) của dung dịch KMnO_4 0,1 N dùng.

6.4.4. Tính kết quả:**a. Kết quả thô:**

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

v₂(ml)	V₃(ml)	v₄(ml)	n₂(ml)

b. Tính kết quả:

Hàm lượng saccaroza X_2 (g) trong 100 g sữa đặc có đường:

$$X_2 = G' \times 0,95 / 1000$$

Trong đó:

G' là số mg đường nghịch chuyển tương ứng với số ml KMnO_4 sử dụng để định lượng đường saccaroza sau khi đã thủy phân thành đường nghịch chuyển, tính như sau:

* Thể tích V (ml) KMnO_4 dùng để định lượng lactoza trong 100 g mẫu là:

$$V = \frac{n_1 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{v_1 \cdot v_3 \cdot P} \text{ (ml)}$$

* Thể tích V' (ml) KMnO_4 dùng để định lượng lactoza trong 100 g mẫu là:

$$V' = \frac{n_2 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot V_3 \cdot 100}{v_1 \cdot v_2 \cdot v_4 \cdot P} \text{ (ml)}$$

Thể tích KMnO_4 0,1 N dùng để định lượng đường nghịch chuyển do thủy phân đường saccaroza trong 100 g sữa đặc có đường là $V' - V$.

0,95 là hệ số dùng để chuyển đường nghịch chuyển sang đường saccaroza.

Bài 10:**ĐỊNH LƯỢNG TINH BỘT THẬT TRONG MỘT MẪU BỘT.****10.1. Nguyên lý:**

Dùng cồn và ête để rửa sạch các tạp chất trong mẫu bột, xong đem mẫu bột hòa tan trong dung dịch HCl rồi kết tủa bằng cồn 96°. Rửa sạch, cân và từ đó tính ra hàm lượng tinh bột trong 100 g mẫu.

10.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Bình hút chân không bằng sứ: hút với vòi nước chảy.
- Phễu lọc sứ (Buchner).
- Bình định mức 100 ml.
- Giấy lọc tròn vừa với đáy phễu.
- Cân phân tích.
- Cồn tinh khiết 96°.
- Dung dịch cồn 10° ; 70°.
- Ete.
- HCl đậm đặc.

10.3. Cách tiến hành:

- Cân 2 g mẫu bột cho vào phễu sứ ở đáy đã lót lớp giấy lọc cắt tròn.
- Rửa mẫu bằng ete, bằng cồn rồi bằng nước, mỗi thứ hai lần, bằng cách hút chân không.
- Cho cặn và giấy lọc vào cốc thủy tinh + 11 ml nước cất + 14 ml HCl đậm đặc, khuấy kỹ.
- Chuyển dung dịch vừa khuấy vào bình định mức 100 ml. Rửa cốc thủy tinh và dồn hết nước rửa vào bình định mức, sau đó cho nước vừa đủ 100 ml và lọc.
- Hút 50 ml dịch lọc trên cho vào cốc thủy tinh, thêm 110 ml cồn 96° khuấy đều và để yên một đêm trong tủ lạnh (khoảng 10 – 12 giờ) để cho tinh bột kết tủa hết.
- Chuẩn bị hai miếng giấy lọc tròn bằng nhau, sấy khô trong cùng một điều kiện và cân.

- Lồng hai miếng giấy lọc với nhau, giấy số 1 để ở trên giấy số 2, để vào đáy phễu cho thật khít.
- Lọc kết tủa tinh bột bằng chân không và bằng cách lọc gạn. Rửa kết tủa với 200 ml cồn 70°, sau đó với cồn 96° cho đến khi hết phản ứng Cl^- (thử với bạc nitrat ở môi trường acid nitric).
- Tách thật khéo để hai miếng giấy lọc riêng rẽ (giấy số 1 phải giữ đầy đủ kết tủa, giấy số 2 làm mẫu đối chứng trắng). Sấy ở nhiệt độ 130°C trong một giờ, để nguội trong bình hút ẩm và cân.

10.4. Tính kết quả:

Với kết quả 2 lần cân:

Lần 1: Giấy lọc số 2 + 2 g = giấy lọc số 1 + P(g).

Lần 2: Giấy lọc số 2 + 2 g = giấy lọc số 1 + kết tủa + P'(g)

Thì hàm lượng tinh bột trong 100 g mẫu thực phẩm là:

$$X = (P - P') \cdot 100 (\%)$$

Bài 11:**ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO TRONG MẪU ĐẬU PHỘNG
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SOXHLET.****11.1. Nguyên tắc:**

Dùng các dung môi hữu cơ như ete etylic, ete dầu hỏa, cloroform, benzen,... để hòa tan tất cả chất béo tự do trong mẫu đậu phộng. Sau khi để bay hơi hết dung môi, cân lượng mẫu còn lại sau khi chiết rút hết chất béo, từ đó tính ra được hàm lượng chất béo có trong 100g mẫu đậu phộng.

11.2. Hóa chất và thiết bị, dụng cụ:

- Ete.
- Thiết bị: Máy Soxhlet với ống giấy ép đựng mẫu thử (xem hình 8.1 trang 51).
- Cối chày sứ.
- Mặt kính đồng hồ.
- Cân phân tích.
- Bình hút ẩm.

11.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau (nội dung chi tiết xem ở phần lý thuyết trang 50):

11.3.1. Chuẩn bị mẫu để chiết rút lipid:

- Sấy mẫu đậu phộng ở nhiệt độ 105°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm, đậy nắp.
- Sấy ống giấy ép dùng đựng mẫu ở nhiệt độ 105°C trong 30 phút, để nguội trong bình hút ẩm, cân khối lượng ống giấy (G_b).
- Cho mẫu đã chuẩn bị trên vào ống giấy, cân chính xác khoảng 10g mẫu. Cân khối lượng ống giấy + mẫu (G_m).

11.3.2. Chuẩn bị mẫu trên máy Soxhlet:

- Đặt bình đun (1) lên nồi cách thủy (4).
- Lắp bình chiết (2) khớp với miệng của bình đun (1).
- Đặt ống giấy đựng mẫu vào đáy của bình chiết (2); lắp ống sinh hàn (3) khớp với miệng của bình chiết (2).
- Lắp các ống cao su cấp và thoát nước cho hệ thống sinh hàn.

- Cho ete vào bình đun (1) đến khoảng 2/3 dung tích của bình.
- Cho nước chảy vào hệ thống sinh hàn.

11.3.3. Chiết rút lipid trên máy Soxhlet:

- Bật bếp cách thủy, duy trì ở nhiệt độ 45°C – 50°C để đun sôi dung môi hữu cơ ở bình đun (1).
- Hơi dung môi theo xi phông (2a) vào ống sinh hàn gặp lạnh, ngưng thành giọt chảy xuống bình chiết (2), hòa tan chất béo trong nguyên liệu.
- Khi ete hòa tan chất béo trong bình chiết ngập xi phông (2b), ete chảy xuống bình đun (1).
- Ete được đun sôi tiếp tục, quá trình lặp lại như trên.
- Thời gian chiết rút chất béo trong khoảng từ 1 giờ 30 phút đến 2 giờ.
- Tháo bình chiết ra, hứng vài giọt ete trên lam kính, hơ nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn để hơi ete bay hết, soi kính, nếu lam kính trong suốt là chất béo trong đậu phộng đã được chiết rút hết.
- Tắt bếp cách thủy, khóa nước máy, tháo ống sinh hàn.
- Lấy ống giấy đựng mẫu ra khỏi bình chiết, đặt vào nơi thoáng gió để ete bay hết. Sấy khô ống giấy đựng mẫu ở nhiệt độ 105°C cho đến khi khối lượng không đổi (khoảng 30 phút).
- Để nguội trong bình hút ẩm, cân, xác định khối lượng của ống và mẫu đã rút hết chất béo ở độ khô tuyệt đối (G_c).

11.4. Tính kết quả:

11.4.1. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

G_b	G_m	G_c

11.4.2. Tính kết quả:

Hàm lượng chất béo tự do X(%) trong mẫu đậu phộng:

$$X = 100 \frac{G_m - G_c}{G_m - G_b} (\%)$$

X : Hàm lượng chất béo tự do có trong nguyên liệu ở độ khô tuyệt đối (%).

G_m : Khối lượng ống giấy và mẫu ở độ khô tuyệt đối (gam).

G_c : Khối lượng ống giấy và mẫu đã chiết rút chất béo ở độ khô tuyệt đối (gam).

Bài 12:**ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO BẰNG PHƯƠNG PHÁP ADAM – ROSE - GOTTLIEB.**

(Thường dùng để định lượng chất béo trong thực phẩm lỏng.)

12.1. Nguyên lý:

Ở môi trường ammoniac và cồn, chiết xuất lipid bằng ête và ête dầu hỏa. Để bay hơi hết ête và ête dầu hỏa, cân lipid và từ đó tính ra hàm lượng lipid trong 100 g thực phẩm.

12.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử:

- Bình lắng gạn.
- Chén thủy tinh hoặc cốc cân có nút mài.
- Bình hút ẩm.
- Cân phân tích.
- Tủ sấy.
- Ete thường.
- Ete dầu hỏa.
- Dung dịch nước màu cochenille (cosoni) hoặc dung dịch phenolphtalein 1%.
- Dung dịch cồn amoniac:

* Cồn 90°	208,5 ml
* NH ₄ OH đậm đặc	7,5 ml
* Nước cất vừa đủ	250 ml

12.3. Cách tiến hành:

Thí nghiệm tiến hành qua các bước chính sau:

- Lấy một thể tích thực phẩm lỏng $V = 10$ ml cho vào bình lắng gạn chứa:
 - * Dung dịch cồn amoniac 10 ml
 - * Ete 11 ml
 - * Dung dịch nước màu cochenille hoặc 1 giọt dung dịch Phenolphtalein.
- Lúc đầu lắc khẽ, sau lắc mạnh dần và cuối cùng lắc thật mạnh.
- Để yên trong 30 phút, trong bình sẽ chia làm hai lớp:

- Lớp dưới là lớp amoniac hòa tan protid và các thành phần khác của thực phẩm.
 - Lớp trên là ête hòa tan chất béo và có lẫn một số chất khác.
- Tách lấy lớp ête, bỏ lớp dung dịch ammoniac hoặc giữ lấy để định lượng protid theo phương pháp kết tủa bởi acid.
 - Cho thêm vào lớp ête 10 ml ête dầu hỏa, lắc thật mạnh, rồi để yên 15 phút.
 - Phần lắng dưới đáy bình lắng gạn được lấy ra cho vào chung với lớp dung dịch amoniac đã lấy ra ở trên để định lượng protid nếu cần.
 - Chuyển hết phần ête vào chén thủy tinh đã sấy khô, cân. Khối lượng chén thủy tinh là P(g).
 - Rửa bình lắng gạn hai lần, mỗi lần với 5 ml ête và dồn hết cả vào chén thủy tinh.
 - Để bốc hơi ête ở nhiệt độ thường, sau đó cho vào tủ sấy 105°C trong 30 phút.
 - Lấy ra, để vào bình hút ẩm cho đến nguội và cân. Khối lượng chén thủy tinh có chứa lipid là P'(g).

12.4. Tính kết quả:

12.4.1. Kết quả thô:

Các kết quả có được khi thực hiện thí nghiệm:

V(ml)	P(g)	P'(g)

12.4.2. Tính kết quả:

Hàm lượng chất béo trong 100 ml thực phẩm lỏng, X(g/100 ml thực phẩm):

$$X = 100 \cdot \frac{P' - P}{V} \text{ (g/100 ml thực phẩm)}$$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Quang Vinh, *Phân tích và quản lý hóa học mía đường*, NXB Nông nghiệp, TP Hồ Chí Minh- 1998.
2. Nguyễn Văn Đạt, Ngô Văn Tám, *Phân tích lương thực thực phẩm*, Bộ Lương Thực Thực Phẩm- 1974.
3. Phạm văn Sổ và Bùi Thị Như Thuận, *Kiểm nghiệm Lương thực Thực phẩm* Trường Đại Học Bách Khoa Hà Nội, Hà Nội- 1991.
4. GS.TS. Phạm Xuân Vượng, *Giáo trình kiểm tra chất lượng thực phẩm*, Sở Giáo dục và Đào tạo Hà nội, NXB Hà Nội- 2007.
5. *Thực hành Phân tích – Kiểm nghiệm Thực Phẩm* (Tài liệu của Khoa Công Nghệ Lương Thực Phẩm).

MỤC LỤC

Chương 1

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU KIỂM NGHIỆM

1.1. Mục đích kiểm nghiệm	3
1.2. Phương pháp lấy mẫu	3
1.2.1. Các yêu cầu và phương pháp chung về lấy mẫu	3
1.2.2. Nguyên tắc gửi mẫu	4
1.2.3. Cách chuẩn bị mẫu thử	5
1.2.4. Các điều cần lưu ý thực hiện khi tiếp nhận mẫu thử	6

Chương 2

PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM

2.1. Định nghĩa	7
2.2. Phương pháp kiểm nghiệm	7
2.2.1. Nguyên lý	7
2.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	7
2.2.3. Tiến hành thử	7
2.2.4. Tính kết quả	8

Chương 3

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO VÀ ĐỘ KIỀM CỦA TRO

3.1. Xác định hàm lượng tro	9
3.1.1. Định nghĩa	9
3.1.2. Phương pháp kiểm nghiệm	9
1.- Hàm lượng tro toàn phần	9
2.- Tro dưới dạng sulfat (tro sulfat)	10
3.- Hàm lượng tro không tan	11
3.2. Độ kiềm của tro	12
3.2.1. Định nghĩa	12
3.2.2. Xác định độ kiềm của tro	12
1. Nguyên lý	12
2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	12
3. Chuẩn bị mẫu thử	13
4. Tiến hành thử	13

Chương 4

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MUỐI ĂN (NaCl)

4.1. Đại cương về phương pháp Mohr	15
------------------------------------	----

4.2. Xác định hàm lượng NaCl - Phương pháp Mohr	16
4.2.1. Nguyên lý	16
4.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	16
4.2.3. Chuẩn bị mẫu thử	17
4.2.4. Tiến hành thử	17
4.2.5. Tính kết quả	17

Chương 5

XÁC ĐỊNH ĐỘ CHUA (ĐỘ ACID)

5.1. Xác định độ acid toàn phần (acid chung)	19
5.1.1. Nguyên lý	19
5.1.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	19
5.1.3. Tiến hành thử	19
5.1.4. Tính kết quả	20
5.2. Xác định độ acid dễ bay hơi	20
5.1.1. Nguyên lý	21
5.1.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	21
5.1.3. Tiến hành thử	21
5.1.4. Tính kết quả	21
5.3. Xác định độ acid cố định	22
5.3.1. Nguyên lý	22
5.3.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	22
5.3.3. Tiến hành thử	22
5.3.4. Tính kết quả	22
5.4. Độ acid tự do của dầu mỡ	23
5.4.1. Nguyên lý	23
5.4.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	24
5.4.3. Tiến hành thử	24
5.4.4. Tính kết quả	24
5.5. Định tính các acid vô cơ (đặc biệt cho dấm)	25
5.5.1. Nguyên lý	25
5.5.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	25
5.5.3. Cách tiến hành	26

Chương 6

ĐỊNH LƯỢNG PROTID

6.1. Đại cương về Protid	28
6.2. Định lượng Protid thô – Phương pháp Kjeldahl	28
6.2.1. Nguyên tắc của phương pháp	28

6.2.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	29
6.2.3. Cách tiến hành	31
6.2.4. Tính kết quả	32
6.3. Định lượng Protein - Phương pháp Stutzer – Barnstein	33
6.3.1. Nguyên lý	33
6.3.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	34
6.3.3. Tiến hành thử	34
6.4. Định lượng nitơ acid amin - Phương pháp định lượng nitơ formol	34
6.4.1. Nguyên lý	34
6.4.2. Dụng cụ, vật liệu, thuốc thử	35
6.4.3. Tiến hành thử	35
6.4.4. Tính kết quả	35
6.5. Định lượng amoniac NH_3	36
6.5.1. Phương pháp định lượng bằng formol	36
6.5.2. Phương pháp định lượng bằng cách cất kéo hơi nước	36

Chương 7:

ĐỊNH LƯỢNG GLUCID

7.1. Đại cương	41
7.2. Các phương pháp kiểm nghiệm Glucid	41
7.2.1. Trường hợp trong thực phẩm chỉ chứa một loại đường	41
Phương pháp BERTRAND	
7.2.2. Trường hợp trong thực phẩm chứa nhiều loại đường	44
1.- Định lượng lactoza và saccaroza (như trường hợp sữa đặc có đường)	44
2.- Định lượng glucoza và saccaroza trong cùng một mẫu thực phẩm	45
7.2.3. Định lượng tinh bột thật	45

Bài 8

ĐỊNH LƯỢNG LIPID

8.1. Đại cương về Lipid	50
8.2. Nguyên nhân biến chất của Lipid	50
8.3. Định lượng Lipid	50
8.3.1. Định lượng chất béo tự do bằng phương pháp Soxlet	50
8.3.2. Định lượng Lipid toàn phần theo WEIBULL – STOLDT	53
8.3.3. Phương pháp xác định nhanh chóng theo GERBER	53
8.3.4. Phương pháp ADAM – ROSE – GOTTLIEB	54
8.4. Các kiểm nghiệm xác định tính chất đặc hiệu của dầu mỡ	56
8.4.1. Xác định tỷ trọng	56
8.4.2. Xác định chỉ số khúc xạ	57

8.4.3. Xác định chỉ số xà phòng hóa	58
8.4.4. Xác định chỉ số acid	59
8.4.5. Xác định chỉ số este	60
8.4.6. Xác định chất không xà phòng hóa:	60
8.5. Kiểm nghiệm xác định tình trạng hư hỏng của dầu mỡ.	63
8.5.1. Xác định độ chua	63
8.5.2. Xác định chỉ số peroxyd	63
8.5.3. Phản ứng Aldehyd (phản ứng Kreiss).	65

PHẦN THỰC HÀNH

Bài 1: XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM CỦA MỘT MẪU BÁNH NGỌT	68
Bài 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TOÀN PHẦN CỦA MẪU BÁNH NGỌT	70
Bài 3: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO KHÔNG TAN TRONG HCl, ĐỘ KIỂM CỦA TRO CỦA MẪU BÁNH NGỌT	72
Bài 4: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MUỐI ĂN TRONG MẪU NƯỚC MẮM	75
Bài 5: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ACID TỔNG SỐ, ACID CỐ ĐỊNH, ACID DỄ BAY HƠI TRONG MẪU NƯỚC TRÁI CÂY	78
Bài 6: ĐỊNH LƯỢNG PROTID THÔ TRONG MẪU NƯỚC MẮM BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL	83
Bài 7: ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TRONG MẪU THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP STUTZER – BARNSTEIN	86
Bài 8: ĐỊNH LƯỢNG NITƠ ACID AMIN – ĐỊNH LƯỢNG NITƠ FORMOL	88
Bài 9: ĐỊNH LƯỢNG ĐƯỜNG LACTOZA VÀ SACCAROZA TRONG SỮA ĐẶC CÓ ĐƯỜNG	90
Bài 10: ĐỊNH LƯỢNG TINH BỘT THẬT TRONG MỘT MẪU BỘT	95
Bài 11: ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO TRONG MẪU ĐẬU PHỘNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP SOXHLET.	97
Bài 12: ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO BẰNG PHƯƠNG PHÁP ADAM – ROSE - GOTTLIEB.	100