

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ TỔNG SỐ (theo phương pháp Kjeldahl)

❖ Nguyên lý

Vô cơ hóa mẫu bằng H_2SO_4 đậm đặc và chất xúc tác, sau đó dùng kiềm mạnh (NaOH hay KOH) để đẩy NH_3 từ muối $(NH_4)_2SO_4$ hình thành ra thể tự do. Định lượng NH_3 bằng H_2SO_4 0,1N.

❖ Tiến hành

- *Đốt đạm*: Cho 1g mẫu, 5g chất xúc tác (K_2SO_4 và $CuSO_4$) và 10ml H_2SO_4 đậm đặc vào bình Kjeldahl và đun trên bếp từ từ cho đến khi thu được dung dịch trong suốt không màu hoặc có màu xanh lơ của $CuSO_4$ để nguội.

Chú ý: • Quá trình vô cơ hóa mẫu trong bình Kjeldahl giải phóng khí SO_2 nên phải tiến hành trong tủ hút.

• Trong quá trình đốt nên đặt bình nằm hơi nghiêng trên bếp.

- *Cát đạm*: Sau khi vô cơ hóa mẫu hoàn toàn, cho một ít nước cất vào bình Kjeldahl để tráng rồi cho vào bình định mức 500ml, tráng rửa bình Kjeldahl và phễu vài lần rồi cho vào bình định mức và cho khoảng 10÷15ml NaOH 40% và vài giọt phenoltalein vào bình định mức, sau đó thêm nước cất vừa đủ 300ml.

Chuẩn bị dung dịch ở bình hứng NH_3 : dùng pipet cho vào bình hứng khoảng 10ml acid Boric, sau đó lắp vào hệ thống sao cho đầu ống sinh hàn ngập trong dung dịch acid Boric.

Bắt đầu quá trình cát đạm cho đến khi dung dịch trong bình hứng đạt khoảng 150ml.

- *Chuẩn độ*: Lấy bình hứng ra và đem đi chuẩn độ bằng H_2SO_4 0,1N.

❖ Tính kết quả

$$\text{Hàm lượng protein thô} = \frac{0,0014 \cdot (V_{H_2SO_4} - V'_{H_2SO_4}) \cdot 100 \cdot 6,25}{m}$$

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ AMONIAC (theo phương pháp cất kéo hơi nước)

❖ Nguyên lý

Đẩy muối amoni ra thể tự do bằng một chất kiềm mạnh hơn amoniac nhưng không quá mạnh (như $Mg(OH)_2$ hay Na_2CO_3) để tránh ảnh hưởng thực phẩm. 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 alizain natri sunfonat làm chỉ thị màu.

❖ Tiến hành

- Trong phương pháp định lượng amoniac, nước sử dụng nhất thiết không được có amoniac hay muối amoni. Do đó trước khi cất kéo amoniac để định lượng phải rửa máy cho thật kỹ để loại amoniac (nếu có).

- Cân hoặc hút chính xác $m(g)$ hoặc $V(ml)$ mẫu, cho vào bình cầu B chứa nước trung tính đã cất kéo hơi nước để rửa máy ở trên cùng với 0,5ml chỉ thị màu. Cho MgO bột vào tới khi có phản ứng kiềm rõ rệt (màu tím).

Chú ý: • Đậy nút ngay để tránh amoniac bay ra.

• Để tránh bọt sủi phòng lên có thể cho thêm vài giọt dầu paraffin hoặc cồn octylic.

- Đun sôi, hơi nước bốc lên ở bình A, qua bình đựng thực phẩm B kéo NH_3 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 một lượng xác định (ml) H_2SO_4 0,1N.

- Cất cho đến khi hơi nước bay ra không còn NH_3 nữa. Hơi NH_3 bay ra kết hợp với H_2SO_4 thành $(NH_4)_2SO_4$. Chuẩn độ H_2SO_4 thừa bằng dung dịch $NaOH$ 0,1N.

Chú ý: • Đầu ra của bộ chưng cất phải nhúng chìm vào dung dịch H_2SO_4 ở bình tam giác

❖ Tính kết quả

$$\text{Hàm lượng } NH_3 \text{ trong 100g thực phẩm} = \frac{1,7 * (V_{H_2SO_4} - V_{NaOH}) * 100}{m * 1000}$$

hay

$$\text{Hàm lượng } NH_3 \text{ trong 1000ml thực phẩm} = \frac{1,7 * (V_{H_2SO_4} - V_{NaOH})}{V}$$

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT BÉO TỰ DO (theo phương pháp Soxhlet)

❖ Nguyên lý

Dùng dung môi nóng để hòa tan tất cả chất béo tự do có trong thực phẩm. Sau khi đuổi hết dung môi, cân chất béo còn lại và tính ra hàm lượng lipid có trong 100g thực phẩm.

❖ Tiến hành

Cân chính xác 5g mẫu để nghiên cứu và đồng đều, sấy đến khối lượng không đổi. Cho mẫu vào túi bằng giấy lọc (đã sấy đến khối lượng không đổi và cân), dùng một miếng bông hút ẩm có thấm ete để lau sạch cốc rồi cho cả miếng bông vào túi cùng với mẫu. Sau đó, cho túi mẫu vào ống chiết Soxhlet.

Cho ete vào 2/3 bình cầu. Cho nước lạnh chảy qua ống sinh hàn.

Đun sôi cách thủy đến khi chất béo được chiết hết. Thời gian khoảng 8 ÷ 12 giờ (trong một giờ dung môi tràn từ ống chiết về bình chứa không ít hơn 5 ÷ 6 lần và không nhiều hơn 8 ÷ 10 lần). Thử xem đã hết dung môi chưa bằng cách lấy vài giọt dung môi trong ống nhỏ lên trên mặt kính đồng hồ, để bay hơi nếu trên bề mặt kính đồng hồ không có vết loang coi như đã chiết xong.

Khi ete chảy hết xuống bình, nhắc ống giấy ra khỏi ống chiết và cất lấy bớt ete lên ống chiết của máy cất.

❖ Tính kết quả

- Phương pháp trực tiếp: rút bình ra để bay hơi hết ete ở nhiệt độ thường rồi cho vào tủ sấy 100°C ÷ 105°C trong 1 giờ 30 phút để đuổi hết ete. Để nguội trong bình hút ẩm 30 phút và cân.

$$\text{Lượng lipid trong 100g thực phẩm (\%)} = \frac{(P - P_0) * 100}{m}$$

- Phương pháp gián tiếp: lấy túi mẫu ra khỏi bình chiết, cho bay hơi hết dung môi, sấy khô đến trọng lượng không đổi và cân.

$$\text{Lượng lipid trong 100g thực phẩm (\%)} = \frac{(G - G_0) * 100}{m}$$

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG KHỬ (theo phương pháp Bertrand).

❖ Nguyên lý

Trong môi trường kiềm, các đường khử (như glucose, fructose, maltose,...) có thể dễ dàng khử $\text{Cu}(\text{OH})_2$ thành Cu_2O (kết tủa màu đỏ gạch).

Để định lượng Cu_2O tạo thành, tiến hành oxi hóa nó bằng $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ trong môi trường H_2SO_4 . Lượng Fe^{2+} tạo thành được xác định bằng cách oxi hóa nhờ dung dịch KMnO_4 trong môi trường acid.

❖ Tiến hành

- Chuẩn bị dịch thử: Cân 1 lượng mẫu cần phân tích (tính toán sao cho phân lọc để chuẩn độ sẽ có nồng độ đường biểu thị bằng glucoza vào khoảng 4-10%) cho vào bình định mức 500ml, tráng lại dụng cụ đã đựng mẫu vài lần với nước cất và cho vào bình (không quá 250ml).

Trung hòa acid hữu cơ có trong mẫu bằng dung dịch NaOH 10% đến pH 7.

- Nếu định lượng các loại đường hòa tan (glucose hoặc các loại đường hòa tan khác) thì chiết xuất 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 bằng dung dịch chì acetate 30%. Để yên 5 phút đến khi thấy xuất hiện 1 lớp chất lỏng trong suốt bên trên lớp cặn. Khử lượng $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dư bằng dung dịch Na_2SO_4 . Cuối cùng cho thêm nước cất vừa đủ 500ml. Lọc lấy phần dịch trong để xác định hàm lượng đường.

- Nếu là đường saccharose: tiến hành thủy phân bằng cách lấy 50ml dịch lọc trên cho vào bình định mức dung tích 100ml, với 5ml $\text{HCl}_{\text{đđ}}$. Đun bình trong nồi cách thủy, sau 2 phút dung dịch thủy phân trong bình phải đạt 68°C , giữ dung dịch ở nhiệt độ $68^\circ\text{C} - 70^\circ\text{C}$. Làm nguội nhanh dưới vòi nước chảy. Trung hòa dung dịch bằng NaOH 20% rồi NaOH 1% với chỉ thị màu là phenolphthalein. Thêm nước cất vừa đủ 100ml và dùng dung dịch này để chuẩn độ.

- Nếu chất thử là tinh bột hoặc dextrin không hòa tan trong nước thì phải tiến hành thủy phân trước và khử tạp chất sau. Sau khi trung hòa, tất cả khoảng 250ml, cho thêm 25ml $\text{HCl}_{\text{đđ}}$, chuyển tất cả vào bình cầu có lắp ống sinh hàn hồi lưu và đặt trực tiếp trên ngọn lửa đun sôi trong 3 giờ. Làm lạnh nhanh dưới vòi nước chảy. Chuyển sang bình định mức, với nước tráng bình cầu, khử tạp chất, cuối cùng thêm nước cất vừa đủ 500ml. Lọc lấy phần dịch trong để xác định hàm lượng đường

Thực hành Phân tích thực phẩm

- Xác định hàm lượng đường:

- Cho vào bình nón dung tích 250ml: 10ml dd Feling A + 10ml dd Feling B.

+ Feling A: 69,28g CuSO_4 tinh thể + Nước cất vừa đủ 1000ml

+ Feling B: 346g Kali natri tartrat + 100g NaOH + nước cất vừa đủ 1000ml.

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

Chú ý: sau khi đun sôi, dung dịch vẫn phải có màu xanh biếc đặc trưng. Nếu dung dịch có màu lục, vàng hoặc nâu, nghĩa là không đủ lượng đồng cần thiết, phải làm lại với lượng dung dịch thí nghiệm ít hơn hoặc lượng thuốc thử Feling nhiều hơn.

• Lấy bình ra, để nghiêng cho cặn Cu_2O lắng xuống, gạn lấy phần nước bên trên và lọc vào bình lọc chân không Buchner. Rửa bình và phễu lọc bằng nước nóng 3 - 4 lần

Chú ý: tránh không để cho kết tủa rơi vào phễu và luôn luôn giữ một lớp nước nóng trên mặt kết tủa trong bình nón và trong phễu.

• Lần gạn lọc cuối cùng, gạn hết nước và cho vào bình nón 20ml dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ trong acid H_2SO_4 (gồm: 50g $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + 20g H_2SO_4 dd + nước cất đủ 1 lít) để hòa tan kết tủa Cu_2O . Rút hết nước trên phễu, ngừng cho chảy tia nước ở ống hút chân không. Thay bình hút lọc cũ bằng bình mới. Đổ dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ đã hòa tan kết tủa Cu_2O lên trên lớp cặn còn lại trên phễu. Tráng bình nón và rửa phễu bằng dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ cho đến khi không còn vết Cu_2O trong bình nón và trong phễu. Hút xuống bình lọc và tráng rửa lại bằng nước nóng, hút cả xuống bình lọc.

Chú ý: chỉ dùng khoảng 30 – 50ml $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ để hòa tan kết tủa, tráng bình và rửa phễu.

• Lấy bình lọc ra và chuẩn độ dung dịch hình thành bằng dung dịch KMnO_4 0,1N cho tới khi xuất hiện màu hồng nhạt bền vững trong 15 giây.

❖ **Tính kết quả**

Đọc số ml KMnO_4 0,1N đã dùng và đem tra bảng để có lượng đường glucose, lactose, maltose hoặc đường nghịch chuyển tùy theo yêu cầu.

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG VITAMIN C (theo phương pháp định lượng bằng Iod).

❖ Nguyên lý:

Vitamin C có thể khử dung dịch Iod. Dựa vào lượng iod bị khử bởi vitamin C có trong mẫu, suy ra hàm lượng vitamin C.

❖ Tiến hành:

Lấy 5 gam mẫu, nghiền nhỏ trong cối sứ với 5 ml HCl 5%, cho vào bình định mức với nước cất vào đủ 50 ml, lắc cho đồng nhất. Sau đó, lấy 20 ml dịch từ bình định mức cho vào erlen dung tích 100 ml, chuẩn độ bằng dung dịch I₂ có tinh bột làm chỉ thị màu cho đến màu xanh.

❖ Tính kết quả:

$$\text{Hàm lượng vitamin C (\%)} = \frac{0,00088 * V * V_1 * 100}{V_2 * m}$$

XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ACID CỦA CHẤT BÉO

❖ Định nghĩa

Chỉ số acid là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa hết các acid tự do có trong 1 gam chất thử.

❖ Nguyên lý:

Dùng dung dịch NaOH 0,1N để trung hòa các acid tự do có trong chất thử với phenolphtalein làm chỉ thị màu.

❖ Tiến hành

Cân chính xác khoảng 5g chất thử, hòa tan trong 50ml hỗn hợp dung dịch gồm 25ml ete trung tính và 25 ml cồn trung tính. Cho thêm 0,5g phenoltalein 1% và chuẩn độ bằng NaOH 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền vững sau 30 giây.

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

Đối với các loại tinh dầu có nhiều este dễ bị xà phòng hóa, dùng dung dịch NaOH 0,05N.

❖ Tính kết quả

$$\text{Chỉ số acid} = \frac{5,61 * a}{m} = \frac{2,805 * a}{m}$$

XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ PEROXID CỦA CHẤT BÉO

❖ Định nghĩa

Chỉ số peroxid là số gam iod được giải phóng ra từ muối kali iodua bởi peroxid có trong 100g chất béo.

❖ Nguyên lý

Ở môi trường acid, peroxid giải phóng iode từ muối kali iodua ở nhiệt độ nóng hoặc lạnh. Chuẩn độ iod được giải phóng ra thể tự do bằng dung dịch natri thiosulfat.

❖ Tiến hành

Cho một luồng khí CO₂ khô vào một bình nón có nút nhám dung tích 250ml đã sấy khô, trong 10-15 phút. Cho ngay thật nhanh một lượng chất thử (khoảng 1 gam) cân trong một ống nghiệm nhỏ, đóng nhanh nút lại. Thêm 10ml cloroform, lắc đều để hòa tan. Cho 15ml acid acetic và 1ml dung dịch bão hòa kali iodua, lắc đều, đóng kín nút lại và để ở chỗ tối trong 5 phút. Sau đó cho thêm 7ml nước cất đã đun sôi, để nguội, lắc thật mạnh và chuẩn độ iod giải phóng ra thể tự do bằng dung dịch Na₂S₂O₃ 0,02N với dung dịch hồ tinh bột làm chỉ thị màu. Gần kết thúc giai đoạn chuẩn độ cứ nhỏ một giọt thuốc thử lại lắc thật mạnh.

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

❖ Tính kết quả

$$\text{Chỉ số peroxide} = \frac{(N - n) * 0,0002538 * 100}{m}$$