

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC - MÔI TRƯỜNG

BÀI GIẢNG THÍ NGHIỆM
HÓA SINH

BIÊN SOẠN: TS. NGÔ THỊ MINH PHƯƠNG

Đà Nẵng – Năm 2020

BÀI 1: XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG KHỬ BẰNG PHƯƠNG PHÁP LUFF SCHOORL

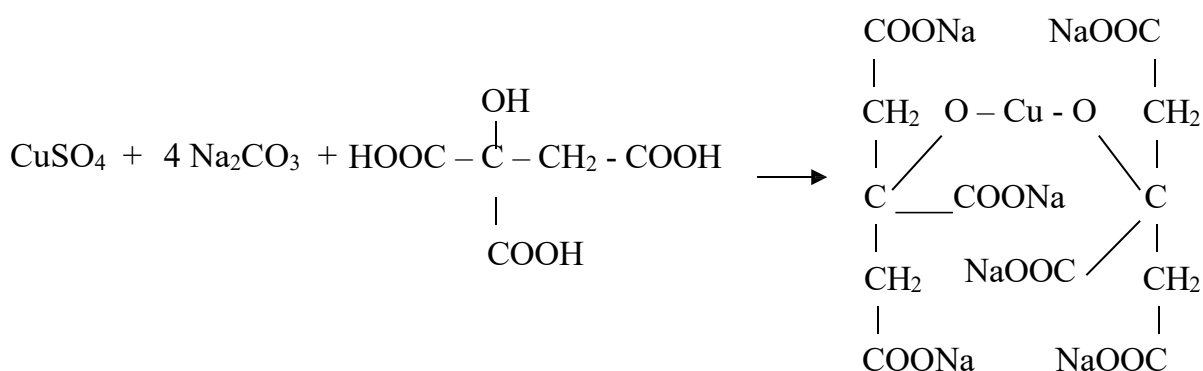
1. LÝ THUYẾT

1.1. Ứng dụng

Phương pháp xác định đường khử bằng phương pháp Luff Schoorl dựa vào khả năng khử Cu^{2+} trong môi trường kiềm để định lượng các loại mono và disaccharid.

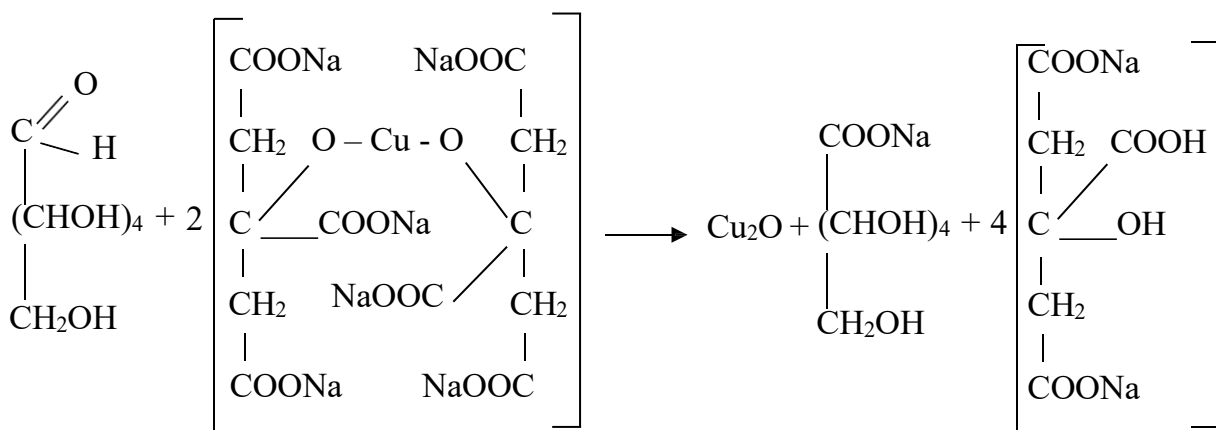
1.2. Nguyên tắc (Phương pháp này có độ chính xác trong khoảng $2\div 60$ mg)

Trong môi trường kiềm nhẹ, đường khử dễ dàng khử được ion đồng (II) thành ion

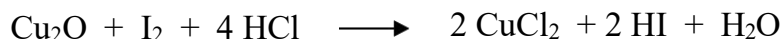


đồng (I) oxit màu đỏ. Dung dịch Luffschoorl như sau:

Muối phức tạo thành giữ cho đồng không bị kết tủa trong môi trường kiềm. Khi cho dung dịch Luffschoorl vào dung dịch đường khử sẽ xảy ra phản ứng sau:



Trong trường hợp này, sự oxy hóa đường khử xảy ra chậm hơn – nhưng phương pháp này có ưu điểm là không phải lọc, tách kết tủa đồng (I) oxit. Lượng đồng (I) oxit tạo thành được định phân bằng phương pháp iot dựa theo phản ứng:



Lượng iot dư không tham gia vào phản ứng được định phân bằng Natri tiosunfat.

Chú ý: Điều kiện cần thiết là lượng Iot phải dư và pH môi trường axit yếu (pH = 5).



Từ lượng (ml) dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ - 0,1N dùng để chuẩn dung dịch kiểm chứng trừ đi lượng (ml) dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ - 0,1N dùng để chuẩn mẫu thí nghiệm ta biết được lượng (ml) Natri tiosunfat 0,1N tương ứng với lượng đồng (I) oxit tạo thành do phản ứng của đường khử với dung dịch Luffschorl.

Tra bảng số tìm ra lượng glucose tương ứng. Căn cứ vào đó mà tính ra hàm lượng đường khử của mẫu phân tích tính theo glucose.

2. DỤNG CỤ, HÓA CHẤT

2.1. Dụng cụ

2.1.1. Dụng cụ riêng cho mỗi nhóm

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình nón 500ml	2 cái
2	Cốc 500ml	1 cái
3	Cốc 250ml	1 cái
4	Cốc 100ml	2 cái
5	Bình định mức 100ml	1 cái

6	Bình tam giác 50ml	2 cái
7	Pipet 25ml	1 cái
8	Phễu lọc nhỏ	1 cái
9	Nút mài cắm ống sinh hàn hồi lưu nước	1 cái
10	Đũa thủy tinh	1 cái
11	Đèn cồn + Lưới amiăng	1 cái
12	Kẹp gỗ	1 cái

2.1.2. Dụng cụ dùng chung cho cả tổ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình tia nước cất	1 cái
2	Pipet 10ml để lấy HCl 5%	1 cái
3	Pipet 10ml để lấy HCl 10%	1 cái
4	Pipet 25ml để lấy Na ₂ CO ₃ bão hoà	1 cái
5	Pipet 25ml lấy Zn(CH ₃ COO) ₂	2 cái
6	Pipet 25ml lấy K ₄ [Fe(CN) ₆]	2 cái
7	Pipet 25ml lấy mẫu nước mía: 5ml	1 cái
8	Nồi cách thuỷ	1 cái

2.2. Hóa chất

2.2.1. Hóa chất cần dùng

STT	Hóa chất	Số lượng
1	Dung dịch Kali feroxianua - 15%: K ₄ [Fe(CN) ₆] . 3 H ₂ O	2ml
2	Dung dịch kẽm axetat-23%: Zn (CH ₃ COO) ₂ . 2 H ₂ O	2ml
3	Dung dịch Luff Choorl	25ml

4	Dung dịch axit axetic – 0,4N	50ml
5	Dung dịch axit clohydric – 0,75N	55ml
6	Dung dịch Iot – 0,1N	25ml
7	Dung dịch Natri tiosunfat-0,1N	chuẩn độ
8	Dung dịch phenolphthalein 1%	Vài giọt
9	Dung dịch tinh bột tan 1%	Vài giọt

2.2.2. Cách pha hóa chất

1 – Dung dịch Kali feroxianua - 15%: $K_4[Fe(CH)_6] \cdot 3 H_2O$: Hòa tan 15g $K_4[Fe(CH)_6] \cdot 3 H_2O$ trong nước cất và định mức tới 100ml bằng nước cất.

2 – Dung dịch kẽm axetat-23%: $Zn (CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$: Hòa tan 23g $Zn (CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$ trong nước cất và định mức tới 100ml bằng nước cất.

3 – Dung dịch Luffschoorl: Hòa tan 25 gam đồng sunfat ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$) trong 100 ml nước cất. Hòa tan 50 gam axit xitric trong 50 ml nước cất. Hòa tan 388 gam Natri carbonat ($Na_2CO_3 \cdot 10 H_2O$) hoặc 145 gam Na_2CO_3 khan trong 300÷400 ml nước cất. Cho dung dịch axit xitric vào dung dịch Natri carbonat, rồi trộn dung dịch đồng sunfat vào, cuối cùng chuyển sang bình định mức dung tích 1000 ml và thêm nước cất tới vạch mức. Lắc đều. Nếu dung dịch không trong thì lọc.

4 – Dung dịch axit axetic – 0,4N: Thêm 24 ml axit axetic glacial vào nước cất cho tới 1000 ml trong bình định mức.

5 – Dung dịch axit clohydric – 0,75N: Thêm 62 ml axit clohydric đặc ($d = 1,84$) vào bình định mức dung tích 1000 ml.

Chú ý: Cho sẵn một ít nước cất vào bình định mức 1000ml rồi mới cho axit vào, sau đó thêm nước cất tới vạch mức.

6 – Dung dịch Iot – 0,1N: Cân chính xác 12,69 gam iot tinh khiết, hòa tan vào dung dịch đậm đặc của KI (30÷35 gam KI trong 50 ml nước cất). Lắc cho tan hết Iot.

Chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml và thêm nước cất cho tới vạch mức. Xác lập nồng độ chuẩn của dung dịch theo hyposunfit (tisunfat)-0,1N. Bảo quản dung dịch trong bình thủy tinh màu.

7 – Dung dịch Natri tiosunfat-0,1N: Cân chính xác 20 gam hyposunfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Hòa tan vào nước cất vừa mới đun để nguội trong bình định mức dung tích 1000 ml, thêm nước cất cho tới vạch mức, lắc đều.

8 – Dung dịch phenolphthalein 1% trong rượu: Hòa tan 1g phenolphthalein trong 100ml rượu 60°.

9 – Dung dịch tinh bột tan 1%: Hòa tan 1 gam tinh bột trong 100 ml nước cất rồi đun nhẹ cho tan hết.

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

3.1. Chuẩn bị dung dịch thí nghiệm

Tùy đối tượng nghiên cứu như: hạt, rau, quả hay dịch đường,... mà cách chuẩn bị dung dịch nghiên cứu dùng định lượng đường khác nhau nhưng đều có nguyên tắc chung như sau:

3.1.1. Lấy mẫu

- Trường hợp nguyên liệu thí nghiệm không chứa quá nhiều tinh bột hoặc inulin, có thể chiết đường từ mẫu nguyên liệu bằng nước: Cân và cho vào cối sứ 1÷2g mẫu nguyên liệu đã được nghiền nhỏ đối với hạt hay mẫu thí nghiệm thực vật khô như cây, lá hoặc quả khô, ... Cân 5÷10g, nếu là nguyên liệu tươi (hoa quả tươi). Nghiền cẩn thận với bột thủy tinh hay cát sạch và 300 ml nước nóng 70÷80°C.

Chuyển toàn bộ hỗn hợp vào bình đo dung tích 100 ml, đun cách thủy ở 75÷80°C trong 35÷40 phút.

- Trường hợp nguyên liệu chứa quá nhiều tinh bột hay inulin như khoai lang, sắn, khoai tây, ... ta chiết đường bằng rượu 70÷80⁰, đun cách thủy hỗn hợp trong bình có lắp ống sinh hàn.

- Trường hợp các nguyên liệu chứa nhiều axit hữu cơ như: Cà chua, dứa, chanh, khế,... cần chú ý là trong quá trình đun chiết, đường saccharose có thể bị thủy phân 1 phần. Do đó, khi cần xác định riêng đường khử và riêng saccharase, trước khi đun cách thủy hỗn hợp phải trung hòa axit bằng dung dịch Na₂CO₃ bão hòa tới pH = 6,5÷7,0.

- Nếu dung dịch chiết có nhiều axit hoặc dung dịch đường sau khi thủy phân mẫu vật bằng axit thì phải trung hòa bằng dung dịch natri carbonat bão hòa có thêm vài giọt metyl đỏ 1% làm chỉ thị.

Chú ý:

. Trong bài thí nghiệm này ta sử dụng dung dịch thí nghiệm là nước mía.

. Lượng mẫu: 5ml nước mía

3.1.2. Làm sạch tạp chất

1. Lấy 5ml nước mía.

2. Thêm 2ml dung dịch kali feroxianua và 2ml dung dịch chì axetat.

3. Lắc đều.

4. Để yên 5 phút.

5. Lọc qua giấy lọc vào bình định mức 100ml. Tráng, rửa vài lần bình nón và phễu lọc bằng nước cất cho chảy vào bình định mức. Thêm nước cất đến vạch mức, lắc đều, ta được dung dịch đường phân tích.

3.2. Tiến hành xác định

1. Cho chính xác 25 ml dung dịch Luffschloorl vào bình nón dung tích 500 ml.

2. Thêm vào đó 25 ml dung dịch đường cần phân tích.

3. Lắp ống sinh hàn để hồi lưu nước.
4. Đun sôi đúng 10 phút (dùng đồng hồ bấm giây).
5. Lấy ra, để nguội nhanh bình dưới vòi nước chảy hoặc nhúng vào chậu nước lạnh.
6. Cho vào bình nón này 50 ml dung dịch CH_3COOH -0,4N.
7. Lắc đều rồi thêm từ từ 25 ml dung dịch Iot - 0,1N (từ buret)
8. Lắc đều và cuối cùng thêm 55 ml dung dịch HCl – 0,75N theo thành bình nón.
9. Đậy nút bình nón lại và lắc cho tan hết kết tủa Cu_2O màu đỏ. Dung dịch có màu lục. Mở nút bình, tráng nút và thành bình bằng tia nước cất cho chảy vào bình.
10. Chuẩn độ lượng Iot dư bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -0,1N. Gần về cuối, cho thêm vài giọt tinh bột tan 1%. Chuẩn tiếp tục cho đến khi màu xanh đậm chuyển đột ngột sang màu xanh lơ nhạt là được.
11. Đọc lấy kết quả $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -0,1N chuẩn được.
12. Làm một mẫu kiểm chứng song song với các lượng thuốc thử và thao tác như trên – nhưng thay dung dịch đường bằng nước cất.
13. Sinh viên báo cáo kết quả để giáo viên hướng dẫn kiểm tra.
14. Rửa dụng cụ, dọn dẹp, lau chùi sạch sẽ vị trí thí nghiệm của nhóm.
15. Sinh viên báo cáo để giáo viên hướng dẫn điểm danh và kiểm tra lại dụng cụ của mỗi nhóm.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Hàm lượng đường khử tính theo công thức:

$$x = \frac{a.V.100}{V_1.m.1000}$$

Trong đó:

- a : lượng glucose ứng với lượng (ml) natri tiosunfat-0,1N dùng mẫu chuẩn kiểm chứng trừ đi lượng (ml) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dùng chuẩn mẫu thí nghiệm (tra bảng) [mg]

- V : dung tích bình định mức [ml]

- V_1 : lượng dung dịch đường lấy để xác định [ml]

- m : lượng mẫu vật [gam]

- 1000 : hệ số chuyển gam thành mg

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Thế nào là đường khử? Phân biệt đường khử và đường saccarozơ.

1. Xác định hàm lượng đường khử dựa trên nguyên tắc nào?

2. Cách chiết mẫu để thu được mẫu thí nghiệm.

3. Làm thế nào để kết tủa protein có trong mẫu? Giải thích cơ chế.

4. Các bước tiến hành thí nghiệm để xác định hàm lượng đường khử.

5. Vì sao khi lấy HCl, CH_3COOH thì lấy bằng cốc mà không dùng pipet?

6. Vì sao dung dịch Luffschorl dùng thí nghiệm phải luôn dư?

7. Trong quá trình tiến hành xác định hàm lượng đường khử, ta tiến hành cho CH_3COOH + dung dịch I_2 vào và sau đó phải cho HCl vào liền để làm gì?

8. Khi chuẩn độ cho tinh bột tan vào lúc nào? Vì sao?

Bảng tra lượng glucose theo Luff Choorl:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 - 0,1\text{N}$ [ml]	Glucose [mg]	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 - 0,1\text{N}$ [ml]	Glucose [mg]
1	2,4	13	33,0
2	4,8	14	35,7
3	7,2	15	38,5

4	9,7	16	41,3
5	12,2	17	44,2
6	14,7	18	47,1
7	17,2	19	50,0
8	19,8	20	53,0
9	22,4	21	56,3
10	25,0	22	59,1
11	27,6	23	62,2
12	30,3	-	-

BÀI 2: XÁC ĐỊNH SACCAROSE THEO PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN BẰNG AXIT

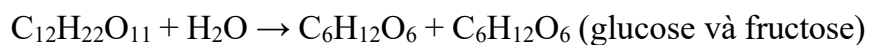
1. LÝ THUYẾT

1.1. Ứng dụng

Phương pháp xác định saccarose cũng dựa trên nguyên tắc của phương pháp Luff Schoorl.

1.2. Nguyên tắc

Khi thủy phân dung dịch saccarose bằng axit, ta được hỗn hợp của 2 đường khử là glucose và fructose. Định lượng đường khử tạo thành cho phép tính được lượng saccarose có trong mẫu vật thí nghiệm:



2. DỤNG CỤ, HÓA CHẤT

2.1. Dụng cụ

Các dụng cụ như bài thí nghiệm 1.

2.1. Hoá chất

2.2.1. Hóa chất cần dùng

STT	Hóa chất	Số lượng
1	Dung dịch Kali feroxianua - 15%: $K_4[Fe(CH)_6] \cdot 3 H_2O$	2ml
2	Dung dịch kẽm axetat-23%: $Zn (CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$	2ml
3	Dung dịch Luff Choorl	25ml
4	Dung dịch axit axetic – 0,4N	50ml
5	Dung dịch axit clohydric – 0,75N	55ml
6	Dung dịch Iot – 0,1N	25ml
7	Dung dịch Natri tiosunfat-0,1N	chuẩn độ

8	Dung dịch phenolphthalein 1%	Vài giọt
9	Dung dịch tinh bột tan 1%	Vài giọt
10	Dung dịch HCl 5%	
11	Dung dịch NaOH 5% hoặc Na ₂ CO ₃ bão hòa	
12	Dung dịch metyl đỏ 0,02%	Vài giọt

2.2.2. Cách pha hóa chất

1. Dung dịch HCl 5%
2. Dung dịch NaOH 5% hoặc Na₂CO₃ bão hòa
3. Dung dịch metyl đỏ 0,02% (hòa tan 0,02 gam metyl đỏ trong 60ml rượu etylic và 40ml nước cất).
4. Các thuốc thử dùng để xác định đường khử theo Bectoran hoặc LuffsChoorl

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy vào bình nón (250ml) 10ml dung dịch thí nghiệm (đã loại bỏ protein và chuẩn bị cho xác định đường khử như trên).
2. Thêm 5ml dung dịch HCl 5%.
3. Đun cách thủy hỗn hợp trong ống sinh hàn trong 30 – 45 phút.
4. Làm nguội nhanh.
5. Trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch NaOH 5% hoặc tốt hơn là bằng dung dịch Na₂CO₃ bão hòa tới pH = 6,5 – 7 với chỉ thị metyl đỏ (3 giọt). Cần thêm kiềm vào từng giọt cho đến khi màu đỏ của chất chỉ thị chuyển sang vàng.
6. Xác định tổng lượng đường bằng phương pháp LuffsChoorl.

Chú ý: Khi xác định saccarose trong các dịch chiết bằng nước có thể kết quả sẽ bị sai khác – bởi vì có một số polysacarit cao phân tử khác cũng chuyển vào dịch chiết một

phần hay hoàn toàn. Trong quá trình thủy phân, những chất này cũng tạo thành các monosacarit. Do đó, có thể chiết đường bằng rượu sao cho nồng độ của rượu trong dung dịch đạt 75 – 80%.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Hàm lượng saccarose của mẫu vật thí nghiệm được tính theo công thức:

$$x = (A - B).0,95$$

Trong đó:

- x: Hàm lượng saccarose (%)
- A: Hàm lượng đường khử tính theo glucose của dịch đường sau khi thủy phân bằng axit (%)
- B: Hàm lượng đường khử của dịch đường trước khi thủy phân (%)
- 0,95: Hệ số chuyển từ glucose sang saccarose

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Viết công thức cấu tạo của saccarose.
2. Cho biết đường saccarose là đường khử hay đường không khử? Giải thích.
3. Nêu nguyên tắc của việc xác định hàm lượng saccarose.
4. Nêu quy trình tiến hành xác định hàm lượng saccarose (cách chuẩn bị mẫu, cách xác định).
5. Sau khi thủy phân saccarose bằng axit, ta nên trung hoà hỗn hợp bằng chất gì? Giải thích.

BÀI 3: XÁC ĐỊNH TINH BỘT THEO PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN BẰNG AXIT

1. LÝ THUYẾT

1.1. Ứng dụng

Hiện nay có rất nhiều phương pháp xác định tinh bột: Hóa học, cực phổ, khúc xạ kế, hóa sinh... Các phương pháp hóa học xác định bằng cách đo cường độ màu của tinh bột với iot hoặc bằng cách định lượng glucose tạo thành sau khi thủy phân tinh bột bằng axit hoặc bằng enzym amylaza.

Phương pháp dựa trên cơ sở đo cường độ màu với Iot không được chính xác vì amylaza và amilopectin tạo màu với Iot rất khác nhau mà hàm lượng của chúng trong từng loại tinh bột lại khác nhau.

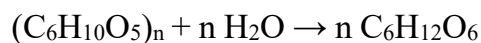
Phương pháp dựa trên cơ sở thủy phân tinh bột bằng axit cũng không cho kết quả thật đáng mong muốn vì khi thủy phân tinh bột bằng axit, không những chỉ số tinh bột mà cả hemixenluloza và các polysacarit phân tử thấp cũng bị phân giải. Do đó khi dùng phương pháp thủy phân bằng axit, trước tiên phải tách tinh bột khỏi nguyên liệu thực vật và chỉ sau đó mới thủy phân nó rồi xác định hàm lượng glucose.

Phương pháp thủy phân bằng enzym cho kết quả chính xác hơn cả vì khi dùng chế phẩm enzym đặc hiệu thì chỉ có tinh bột bị phân giải.

Dưới đây, ta sẽ tiến hành làm với phương pháp thủy phân bằng axit:

1.2. Nguyên tắc

Dưới tác dụng của axit, tinh bột bị thủy phân tạo thành đường glucose. Xác định lượng glucose tạo thành bằng phương pháp Luff'sChoorl., nhân với hệ số 0,9, ta được hàm lượng tinh bột:



$$\begin{array}{ccc} 162,1 & 18,2 & 180,12 \end{array}$$

$$P = \frac{162,1}{180,12} = 0,9$$

2. DỤNG CỤ, HÓA CHẤT

2.1. Dụng cụ

Như bài 2

2.2. Hóa chất

Như bài 2.

Thêm hoá chất HCl 10%.

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy vào bình cầu 100ml từ 200 – 250mg mẫu vật đã nghiền nhỏ và biết rõ hàm lượng ẩm.

2. Để loại bỏ đường tan, thêm vào bình 50ml nước cất, lắc đều, giữ yên 30 – 40 phút, lọc, bỏ nước lọc.

3. Rửa tinh bột bằng nước cất 2 – 3 lần và chuyển hoàn toàn vào bình cầu 25ml dung dịch HCl 5% sau khi đã chọc thủng giấy lọc.

4. Đậy kín bằng nút cao su có lắp ống sinh hàn hồi lưu.

5. Đun cách thủy hỗn hợp trong 3 – 5 giờ. Thử sự thủy phân hoàn toàn của tinh bột bằng dung dịch Iot.

6. Làm nguội.

7. Trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch NaOH 5% tới pH = 5,5 – 6 (bỏ trực tiếp mẫu giấy quỳ vào bình).

8. Chuyển hỗn hợp vào bình đong 100ml.

9. Kết tủa protein bằng dung dịch axetat chì 10% và loại bỏ axetat chì dư bằng dung dịch bão hòa Na_2SO_4 hoặc Na_2HPO_4 . Thêm nước tới vạch mức. Lắc đều và lọc.

10. Xác định lượng đường glucose trong dung dịch (lấy 5 hoặc 10ml) bằng phương pháp LuffsChoorl, qua đó, ta tính được hàm lượng tinh bột.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Hàm lượng tinh bột tính theo công thức:

$$x = \frac{a.V.100.0,9}{V_1.m}$$

Trong đó:

- x: Hàm lượng tinh bột (%)
- a: Lượng glucose ứng với lượng (ml) KMnO_4 dùng chuẩn mẫu thí nghiệm trừ đi lượng (ml) KMnO_4 dùng chuẩn mẫu kiểm chứng (mg)
- V_1 : Thể tích dung dịch đường (sau thủy phân) để xác định glucose (ml)
- V: Dung tích bình định mức (ml)
- m: Trọng lượng mẫu vật (mg)
- 0,9: Hệ số quy chuyển glucose thành tinh bột

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Nêu cấu tạo của tinh bột.
2. Trình bày các phương pháp để xác định hàm lượng tinh bột.
3. Nêu nguyên tắc của việc xác định tinh bột theo phương pháp thủy phân bằng axit.
4. Nêu quy trình tiến hành xác định hàm lượng tinh bột theo phương pháp thủy phân bằng axit.

BÀI 4: XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ LÝ HÓA CỦA CHẤT BÉO

Các chỉ số xà phòng, axit, este, iot và peroxyt đặc trưng cho tính chất của chất béo. Các chỉ số này thay đổi tùy thuộc vào loại chất béo, điều kiện bảo quản chúng. Dựa vào các chỉ số này để xác định chất lượng của chất béo.

A. CHỈ SỐ AXIT

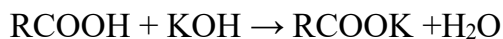
1. LÝ THUYẾT

1.1. Định nghĩa

Chỉ số axit là số mg KOH cần để trung hòa các axit béo tự do có trong 1g chất béo.

1.2. Nguyên tắc

Trung hòa chất béo bằng dung dịch KOH chuẩn độ, khi đó giữa KOH và các axit béo tự do có trong chất béo sẽ xảy ra phản ứng:



Dựa vào lượng KOH dùng để trung hòa các axit, tính chỉ số axit.

2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình nón 250ml	01
2	Bình định mức 1000ml	01
3	Pipet 2 ml	01
4	Pipet 25ml	01
5	Buret 25 ml	01

2.2. Hóa chất

STT	Hoá chất	Số lượng
1	Ete etylic	25 ml
2	Rượu etylic 96 ⁰	25 ml
3	KOH 0,1N trong rượu	chuẩn độ
4	Dung dịch phenolphthalein 1% trong rượu	vài giọt
5	Dung dịch timolphthalein 1% trong rượu	vài giọt

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy vào bình cầu hoặc hình nón sạch, khô (dung tích 250ml) một lượng mẫu chất béo khoảng 3 – 5 gam (cân trên cân phân tích).

2. Thêm vào đó 30 – 50ml hỗn hợp ete : rượu 96% (tỉ lệ 1: 1) để hòa tan chất béo. Nếu sau khi lắc cẩn thận, chất béo vẫn chưa tan hết, có thể đun nhẹ hỗn hợp trên nồi cách thủy, lắc đều.

3. Sau khi làm nguội định phân hỗn hợp bằng dung dịch KOH 0,1N trong rượu (để tránh những sai sót có thể xảy ra do sự thủy phân của xà phòng, trong trường hợp khi hỗn hợp chứa quá nhiều nước, từ 20% trở lên) với chỉ thị phenolphthalein (5 giọt dung dịch 1% trong rượu) cho đến khi xuất hiện màu hồng tươi. Trường hợp chất béo có màu thâm thì dùng chỉ thị timolphthalein (1ml dung dịch 1% trong rượu) định phân cho đến xanh hoặc dùng ankali xanh – 6 – B (1ml dung dịch 1% trong rượu).

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Chỉ số axit tính theo công thức:

$$A_x = \frac{5,611.b.f}{m}$$

Trong đó:

- b: Lượng dung dịch KOH 0,1N dùng định phân (ml)

- m: Lượng mẫu thí nghiệm (g)

- f: Hệ số điều chỉnh nồng độ dung dịch (KOH 0,1N) đem dùng
- 5,611: Lượng KOH có trong 1ml KOH 0,1N (mg)

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Ứng dụng của việc xác định các chỉ số lý hoá của chất béo.
2. Chỉ số axit là gì? Nêu nguyên tắc xác định chỉ số axit của chất béo.
3. Nêu quy trình tiến hành xác định chỉ số axit của chất béo.

B. CHỈ SỐ XÀ PHÒNG

1. LÝ THUYẾT

1.1. Định nghĩa

Chỉ số xà phòng là lượng (mg) KOH cần để trung hòa các axit béo tự do cũng như liên kết có trong 1 gam chất béo. Nói cách khác, là để xà phòng hóa các glixerit cũng như để trung hòa các axit béo tự do có trong 1 gam chất béo.

1.2. Nguyên tắc

Đun sôi chất béo với một lượng dư dung dịch KOH chuẩn độ thì chất béo bị thủy phân.

Các axit béo được giải phóng ra sẽ phản ứng với KOH:

Các axit béo tự do cũng phản ứng với KOH.

Lượng kiềm dư không tham gia phản ứng với các axit béo được định phân bằng HCl chuẩn. Dựa vào lượng kiềm tiêu tốn để trung hòa tất cả các loại axit béo trong chất béo tính được chỉ số xà phòng.

2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình cầu 250ml có lắp sinh hàn không khí	01
2	Bình định mức 100ml	01
3	Pipet 25ml	01
4	Buret 25ml	01

2.2. Hóa chất

2.2.1. Hoá chất cần dùng

STT	Hoá chất	Số lượng
1	KOH 0,5N trong rượu	25 ml
2	HCl 0,5N	chuẩn độ
4	Dung dịch phenolphthalein 1% trong rượu	vài giọt
5	Dung dịch timolphthalein 1% trong rượu	vài giọt

2.2.2. Cách pha hoá chất

1. Dung dịch KOH 0,5N trong rượu: 30 gam KOH tinh khiết hòa tan trong 1 lít rượu etylic tinh khiết, đun nóng có lắp ống sinh hàn hồi lưu. Để yên dung dịch trong 1 ngày đêm, sau đó lọc và bảo quản trong bình chứa màu nâu.

2. Dung dịch HCl 0,5N

3. Dung dịch phenolphthalein 1% trong rượu hoặc timolphthalein

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy vào bình cầu 250ml chính xác 2 – 3g chất béo.

2. Dùng pipet hoặc buret cho vào bình 20ml dung dịch KOH 0,5N trong rượu.

3. Đậy bình bằng nút có lắp ống sinh hàn và đun sôi cách thủy hỗn hợp trong 1 giờ. Nếu xà phòng hóa các chất khó tan thì có thể thêm khoảng 20ml một trong các dung môi có nhiệt độ sôi cao như toluen, rượu propylic, butylic hoặc amilic.

4. Sau khi xà phòng hóa xong, làm nguội hỗn hợp, thêm 5 giọt dung dịch phenolphthalein hoặc timolphtalein 1% trong rượu.

5. Định phân bằng dung dịch HCl 0,5N.

6. Làm thí nghiệm kiểm chứng song song (vì nồng độ của kiềm có thể bị biến đổi): thay chất béo bằng một lượng nước cất tương ứng.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Chỉ số xà phòng tính theo công thức:

$$X_p = m \frac{(a - b) \cdot f_1 \cdot 28,05 \cdot f_2}{m}$$

Trong đó:

- a: Lượng HCl 0,5N dùng định phân mẫu kiềm chứng (ml)
- b: Lượng HCl 0,5N dùng định phân mẫu thí nghiệm (ml)
- f_1 : Hệ số điều chỉnh nồng độ của HCl đem dùng
- f_2 : Hệ số điều chỉnh nồng độ của KOH đem dùng
- m: Lượng mẫu chất béo (gam)
- 28,05: Lượng KOH có trong 1ml KOH 0,5N

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Chỉ số xà phòng là gì? Nêu nguyên tắc xác định chỉ số xà phòng của chất béo.
2. Nêu quy trình tiến hành thí nghiệm xác định chỉ số xà phòng của chất béo.

C. CHỈ SỐ ESTE

1. LÝ THUYẾT

1.1. Định nghĩa

Chỉ số este là số mg KOH cần để xà phòng hóa các glyxerit (este) có trong 1 gam chất béo.

1.2. Nguyên tắc

Chỉ số este chính là hiệu số giữa chỉ số xà phòng và chỉ số axit:

$$Es = Xp - Ax$$

Trong thực tế sản xuất, chỉ số este cho phép tính được lượng glyxerin có thể thu được khi xà phòng hóa chất béo.

Hàm lượng glyxerin của chất béo tính theo công thức:

$$G = 0,0547 \cdot Es (\%)$$

2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

Như phần A + B

2.2. Hóa chất

Như phần A + B

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

Như phần A + B

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Chỉ số este = Chỉ số xà phòng – Chỉ số axit

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Chỉ số ester là gì? Nêu nguyên tắc xác định chỉ số ester của chất béo.
2. Nêu công thức tính chỉ số axit, chỉ số xà phòng và chỉ số este.

D. CHỈ SỐ IOT

1. LÝ THUYẾT

1.1. Định nghĩa

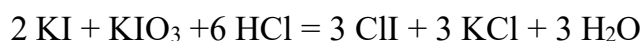
Chỉ số Iôt của chất béo được xác định bằng số gam iôt liên kết với 100g chất béo.

Chỉ số này cho ta biết hàm lượng axit béo chưa no có trong chất béo. Nếu chỉ số iôt càng cao thì nhiệt độ nóng chảy của chất béo càng thấp. Liên kết đôi càng xa nhóm COOH thì dễ cộng hợp với iôt.

1.2. Nguyên tắc

Phương pháp này nhanh và cũng là một phương pháp tiêu chuẩn.

Iot clorua được tạo thành theo phản ứng:



Iot clorua kết hợp vào các nối kép của axit béo có trong chất béo. Lượng I_2 dư định phân bằng dung dịch tiosunfat như trong phương pháp dùng dung dịch Giulơ. Từ đó dễ dàng biết được lượng I_2 đã kết hợp với chất béo và tính chỉ số iot.

2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình nón có nút mài 250ml	01
2	Bình định mức 1000ml	01
3	Pipet 25ml	03
4	Buret 25ml	01

2.2. Hóa chất

2.2.1. Hoá chất cần dùng

STT	Hoá chất	Số lượng
1	KI	11,1g
2	KIO ₃	7g
3	HCl đậm đặc	50 ml
4	Cloroform	20 ml
5	KI 1%	10 ml
6	Tinh bột tan 1%	vài giọt
7	Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1N	chuẩn độ
8	Ete etylic	5 ml

2.2.2. Cách pha hoá chất

1. Dung dịch iot clorua trong HCl 0,2N: Cho vào bình (nút mài) 11,1g KI và 7g iodat kali (KIO₃), 50ml nước cất, 50ml HCl đậm đặc ($d=1,19$) và lắc cho Iot hòa tan hoàn toàn. Sau đó, thêm 20ml cloroform. Vừa lắc thật mạnh, vừa cho thêm từng giọt KIO₃ 1% cho đến khi màu tím của cloroform bị mất đi. Chuyển dung dịch sang phễu chiết để yên, bỏ lớp nước đi và chuyển dung dịch còn lại sang bình định mức rồi thêm nước cất cho tới 1 lít. Bảo quản thuốc trong bình thủy tinh màu ở chỗ tối.

2. Dung dịch KI 1%: Lấy 1g KI hoà tan trong 100ml nước cất.

3. Dung dịch tinh bột tan 1%: Hòa tan 1 gam tinh bột trong 100 ml nước cất rồi đun nhẹ cho tan hết.

4. Dung dịch Na₂S₂O₃ 0,1N: Cân chính xác 20 gam hyposunfit (Na₂S₂O₃.5 H₂O). Hòa tan vào nước cất vừa mới đun để nguội trong bình định mức dung tích 1000 ml, thêm nước cất cho tới vạch mức, lắc đều.

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy chính xác vào bình nón 250ml có nút mài từ 0,2 – 0,5g dầu (3 – 7 giọt).

2. Thêm 5ml ete etylic vào bình để hòa tan chất béo.

3. Sau đó thêm 25ml dung dịch clorua iot trong HCl 0,2N.
4. Lắc đều, đậy kín bình lại và để yên 15 phút.
5. Tiếp đó, cho thêm 10ml dung dịch KI 10%, 50ml nước cất.
6. Định phân Iot giải phóng ra bằng dung dịch tiosunfat natri 0,1N cho đến màu vàng rom.
7. Sau đó, thêm 1ml dung dịch hồ tinh bột 1%, 3ml cloroform và định phân tiếp cho đến khi dung dịch mất màu hoàn toàn.
8. Cho thêm cloroform vào để giải phóng Iot bị hấp phụ trên chất béo. Chú ý lắc mạnh trong lúc định phân.
9. Đồng thời tiến hành làm thí nghiệm kiểm chứng.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Chỉ số Iot tính theo công thức đã dẫn trong phương pháp Giulor.

$$I = \frac{(a - b) \cdot f \cdot 0,01269 \cdot 100}{m}$$

Trong đó:

- a: Lượng dung dịch Na₂S₂O₃ 0,1N dùng định phân mẫu thí nghiệm
- b: Lượng dung dịch Na₂S₂O₃ 0,1N dùng định phân mẫu kiểm chứng
- f: Hệ số hiệu chỉnh nồng độ của Na₂S₂O₃ đem dùng
- m: Lượng mẫu chất béo
- 0,01269: Lượng iot tương ứng với 1ml dung dịch Na₂S₂O₃ 0,1N (g)

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Chỉ số iot là gì? Nêu nguyên tắc xác định chỉ số iot của chất béo.
2. Mục đích của việc thêm ete etylic vào khi xác định chỉ số iot.
3. Nêu quy trình tiến hành xác định chỉ số iot của chất béo.

E. CHỈ SỐ PEROXYT

1. LÝ THUYẾT

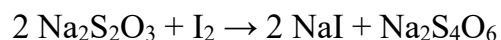
1.1. Định nghĩa

Chỉ số peroxit là lượng (gam) Iot có thể phản ứng với hydro hoạt động của các peroxit chứa trong 100 gam chất béo – nói cách khác, là lượng (gam) Iot được giải phóng ra khi cho dung dịch Iodua kali tác dụng với 100 gam chất béo nhờ tác dụng của các peroxit có trong chất béo.

1.2. Nguyên tắc

Việc xác định chỉ số peroxit dựa trên nguyên tắc: Các peroxit của chất béo (tạo thành trong quá trình ôi hóa của chất béo) trong môi trường axit có khả năng phản ứng với KI, tạo thành Iot.

Iot tạo thành được định phân bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Dựa vào lượng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu tốn khi định phân Iot tính chỉ số peroxit:



2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình tam giác 100ml	01
2	Bình định mức 100ml	01
3	Pipet 10ml	01
4	Cối chàyr sứ	01

2.2. Hóa chất

STT	Hóa chất	Số lượng
1	Cloroform	10 ml

2	Axit axetic băng	20 ml
3	Dung dịch KI bão hòa mới pha	tùy thuộc mẫu
4	Dung dịch hồ tinh bột 1%	vài giọt
5	Dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N (pha trước khi dùng từ dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N bằng nước cất đun sôi để nguội không chứa CO_2).	chuẩn độ

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Lấy 5 gam dầu hòa tan trong 10ml cloroform và 20ml axit axetic băng với tỉ lệ 1:2.
2. Sau đó thêm một ít KI ở dạng tinh thể bão hòa vào.
3. Đậy kín và lắc đều trong 10 – 15 phút.
4. Chuẩn độ lượng Iot giải phóng bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N với chỉ thị hồ tinh bột.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

Người ta sử dụng công thức đã nêu để tính chỉ số Iot cho việc tính chỉ số peroxit (P):

$$P = \frac{(a - b) \cdot f \cdot 0,01269 \cdot 100}{c}$$

Trong đó:

- a: Số ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N dùng chuẩn độ bình thí nghiệm
- b: Số ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N dùng chuẩn độ bình kiểm tra
- c: Khối lượng chất béo
- f: Hệ số hiệu chỉnh nồng độ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- 100: Hệ số quy chuẩn cho 100g chất béo
- 0,01269: Số gam iot tương ứng với 1ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N.

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Chỉ số peroxit là gì? Nêu nguyên tắc xác định chỉ số peroxit của chất béo.
2. Nêu quy trình tiến hành xác định chỉ số peroxit của chất béo.
3. Vai trò của cloroform và axit axetic băng trong quá trình xác định chỉ số peroxit của chất béo.

BÀI 5: ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN C

1. LÝ THUYẾT

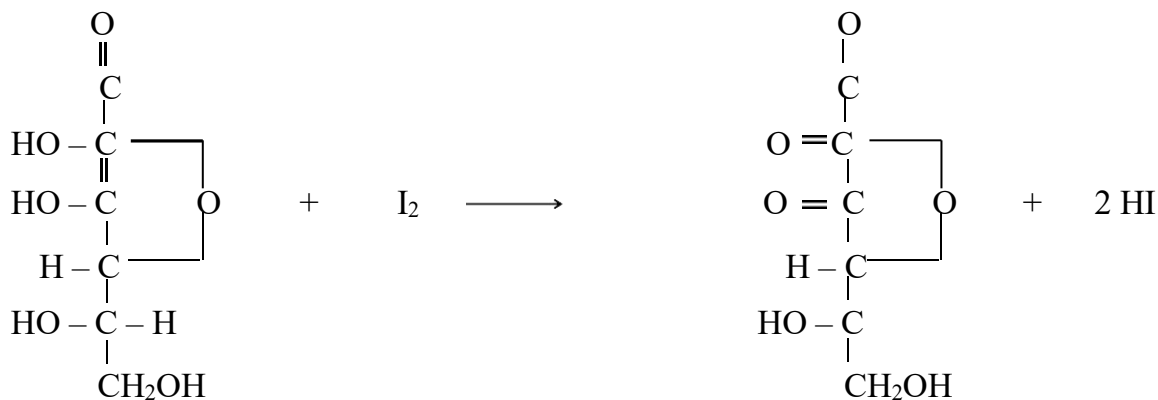
1.1. Ứng dụng

Xác định hàm lượng vitamin C có trong nguyên liệu như rau thì là, rau cải, quả táo, cam, bưởi,... dựa vào tính chất khử của axit ascorbic đối với các chất màu.

1.2. Nguyên tắc

Axit ascorbic có tính khử mạnh được oxy hóa bằng dung dịch I_2 với chỉ thị là dung dịch tinh bột. Điểm kết thúc của phản ứng nhận biết được nhờ chỉ thị tinh bột. Đây là phương pháp xác định nhanh và cho kết quả gần đúng.

Phản ứng như sau:



2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT

2.1. Dụng cụ

STT	Dụng cụ	Số lượng
1	Bình tam giác 100ml	01
2	Bình định mức 100ml	01
3	Pipet 10ml	01
4	Cối chày sứ	01

2.2. Hóa chất cần dùng

STT	Hoá chất	Số lượng
1	HCl 2%	40
2	Tinh bột 0,5%	01
3	Iot 0,01N	01

3. QUY TRÌNH TIẾN HÀNH THÍ NGHIỆM

1. Cho vào cối sứ 2g nguyên liệu và 10ml HCl 2%.
2. Nghiền nhỏ, chắt nước chiết trong sang cốc (V = 50ml).
3. Cho thêm 10ml HCl 2% vào cối sứ, tiếp tục nghiền, chắt nước chiết trong sang cốc.
4. Lặp lại lần thứ 3, kết thúc quá trình chiết rút.
5. Dùng 10ml HCl 2% tráng lại cối chày sứ.
6. Chuyển toàn bộ dịch chiết và dịch tráng cối chày sứ sang bình định mức (V = 50ml), dùng nước cất dẫn đến mức của bình.
7. Để bình định mức trong bóng tối khoảng 10 phút cho lượng axit ascorbic có trong nguyên liệu được hòa tan hoàn toàn, lọc lấy dịch trong.
8. Lấy 10ml dịch lọc cho vào bình tam giác (V = 100ml), thêm vào đó 10 giọt tinh bột 0,5%, lắc nhẹ. Dùng I₂ 0,01N chuẩn độ đến khi dung dịch bắt đầu xuất hiện màu xanh lam nhạt là được.

4. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ KẾT QUẢ

$$X = \frac{V_c \cdot V \cdot 0,00088 \cdot 100}{V_f \cdot g}$$

Trong đó:

- X: Hàm lượng vitamin C có trong nguyên liệu (%)
- V_c : Số ml dung dịch I_2 0,01N chuẩn độ
- V_f : Số ml dung dịch mẫu đem phân tích
- V: Dung tích mẫu pha loãng (50ml)
- g: Số gam nguyên liệu đem phân tích (2g)
- 0,00088: Số gam vitamin C tương đương với 1ml I_2 0,01N

5. CÂU HỎI CHUẨN BỊ

1. Nêu nguyên tắc định lượng vitamin C bằng phương pháp chuẩn độ.
2. Vai trò của HCl trong quá trình chiết rút vitamin C trong mẫu nguyên liệu chứa vitamin C.
3. Nêu quy trình tiến hành xác định hàm lượng vitamin C.

BÀI 6: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL

1. Phạm vi áp dụng:

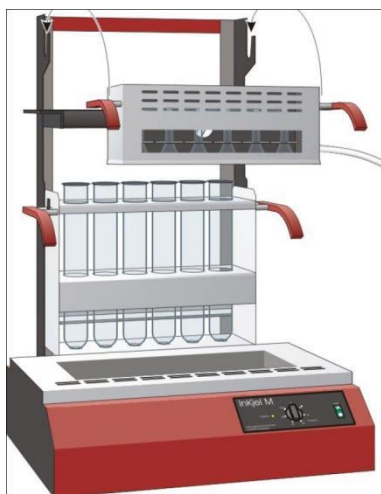
Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng protein có trong mẫu thực phẩm (theo FAO 14/7), trong mẫu thực phẩm (ISO 1871:2009) và thức ăn chăn nuôi (AOAC 988.05, 984.13) bằng phương pháp Kjeldahl.

2. Nguyên tắc:

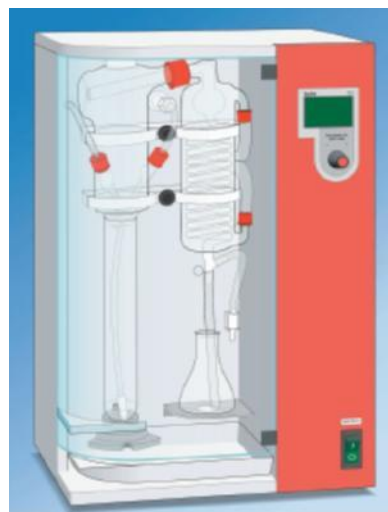
Mẫu được phân hủy bằng axit sunfuric với sự có mặt của chất xúc tác. Sản phẩm phản ứng được kiềm hóa, sau đó được chưng cất và chuẩn độ lượng ammoniac giải phóng. Tính hàm lượng nitơ và nhân kết quả với hệ số quy ước để có được hàm lượng protein thô.

3. Dụng cụ và thiết bị:

- Thiết bị phá mẫu
- Thiết bị chưng cất đạm
- Cân phân tích
- Bình định mức, bình tam giác, buret, pipet



Thiết bị phá mẫu



Thiết bị chưng cất đạm

4. Hóa chất:

- Hóa chất được sử dụng trong quá trình phân tích là hóa chất tinh khiết. Nước dùng trong quá trình phân tích là nước cất theo TCVN 4851:1089 hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

- Dung dịch H_2SO_4 0,1N

- Hỗn hợp xúc tác K_2SO_4 và CuSO_4 tỉ lệ 10:1 về khối lượng

- Chỉ thị hỗn hợp: 200mg metyl đỏ và 100mg xanh metylen hòa tan trong 200ml etanol 96%.

- Dung dịch NaOH 30%: Cân 30g NaOH hòa tan thành 100ml bằng nước cất.

- Axit boric 40g/l: Cân 40 gam axit boric hòa tan thành 1 lít bằng nước cất.

5. Tiến hành thí nghiệm:

- Cân chính xác khoảng 0,5 – 1g mẫu, chuyển vào bình phân hủy Kjeldahl.

- Thêm 1g hỗn hợp xúc tác và 25ml axit sunfuric

- Đầu tiên đun nhẹ, sau đó tiếp tục đun đến khi dịch lỏng sôi đều

- Thời gian phân hủy kết thúc khi dịch vô cơ hóa trong bình có màu xanh trong

- Để nguội, chuyển vào bình định mức 100ml, định mức bằng nước cất (dung dịch A)

- Quá trình chưng cất:

. Dùng pipet hút chính xác Vml dung dịch A (tùy thuộc vào hàm lượng nitơ có trong mẫu) cho vào bình cất, thêm vài giọt chỉ thị hỗn hợp, lắp bình cất vào thiết bị chưng cất.

. Cho vào bình hứng của thiết bị chưng cất 50ml axit boric (hoặc dùng pipet lấy 25ml axit sunfuric 0,1N) và vài giọt chỉ thị hỗn hợp.

. Nhúng đầu ra của thiết bị chưng cất ngập trong dung dịch của bình hứng.

. Điều chỉnh lượng NaOH thêm vào bình cất phải dư (nhận biết bằng sự đổi màu của chỉ thị)

. Tiến hành chưng cất mẫu trong 5 phút.

- Quá trình chuẩn độ:

. Nếu dùng axit boric làm dịch thu thì chuẩn độ lượng ammoniac bằng axit sunfuric 0,1N; quá trình chuẩn độ kết thúc khi dung dịch trong bình hứng chuyển từ màu xanh lá mạ sang màu tím.

. Nếu dùng axit sunfuric làm dịch thu thì chuẩn độ lượng ammoniac bằng dung dịch NaOH 0,1N; quá trình chuẩn độ kết thúc khi dung dịch trong bình hứng chuyển từ màu tím sang màu xanh lá mạ.

6. Tính kết quả:

- Tính hàm lượng nitơ như sau:

➤ Dịch cất thu trong axit boric:

Hàm lượng nitơ có trong mẫu được biểu thị bằng phần trăm theo công thức sau:

$$X_1 = \frac{(V_3 - V_2) \times 0,0014 \times 100 \times 100}{m \cdot V}$$

Trong đó:

X_1 : Hàm lượng Nitơ tổng số (%)

V_3 : thể tích của H_2SO_4 0, 1N dùng để chuẩn độ (ml)

V_2 : thể tích của H_2SO_4 0, 1N dùng để mẫu trắng (ml)

V : thể tích mẫu lấy để cất (ml)

m : Lượng mẫu thử nghiệm (g)

➤ Dịch cất thu trong H_2SO_4 :

Hàm lượng nitơ có trong mẫu được biểu thị bằng phần trăm theo công thức sau:

$$X_1 = \frac{(V_0 - V_1) \times 14 \times C \times 100 \times 100}{1000 \times V \times m}$$

Trong đó:

X_1 : Hàm lượng Nitơ tổng số (%)

V_0 : thể tích của NaOH 0, 1N dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml)

V_1 : thể tích của NaOH 0, 1N dùng để chuẩn độ mẫu (ml)

C : nồng độ của NaOH 0,1N (mol/l)

V : thể tích mẫu lấy để cất (ml)

m : Lượng mẫu thử nghiệm (g)

. Tính lượng protein thô

Hàm lượng protein thô có trong mẫu được biểu thị bằng phần trăm theo công thức sau:

$$X_2 = X_1 \times K$$

Hệ số chuyển đổi nitơ ra protein là 6.38.

Báo cáo kết quả chính xác đến 0,01g/kg hoặc 0,1%. Sai lệch cho phép giữa hai kết quả song song được tham khảo theo TCVN 4328-1:20.