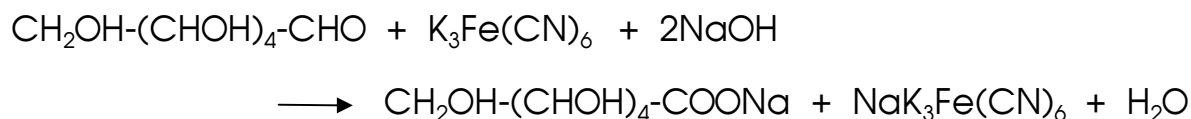


**BÀI 1:****ĐỊNH LƯỢNG ĐƯỜNG KHỬ, ĐƯỜNG TỔNG BẰNG  
PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ  
OXY HÓA KHỬ VỚI FERRYCYANURE****I. Nguyên tắc:**

Khi cho ferricyanure  $K_3Fe(CN)_6$  phản ứng với đường khử, sản phẩm thu được là ferrocyanure. Dựa vào phản ứng này, ta có thể suy ra lượng đường khử có mặt trong dung dịch cần xác định. Việc chuẩn độ được tiến hành trong môi trường kiềm NaOH, khi đun nóng với chỉ thị xanh metylen (methylene blue). Phương trình phản ứng:



Phương pháp này đơn giản hơn phương pháp dùng dung dịch kiềm của sulfat đồng do không tạo tủa và phản ứng kết thúc rõ ràng. Kết quả tính toán không dựa vào phương trình lý thuyết, mà dùng công thức thực nghiệm. Độ chính xác của kết quả phụ thuộc nhiều yếu tố, nhưng trình tự tiến hành và thao tác là quan trọng nhất.

Tất cả monosacarit và một số oligosacarit là đường khử. Các oligosacarit và polysacarit dễ bị thủy phân thành monosacarit vì vậy có

thể định lượng được đường khử trước và sau thủy phân để tính hàm lượng của chúng.

## II. Hoá chất-dụng cụ:

### 1. Dụng cụ:

Bếp điện, kẹp, lưới amiang, nồi cách thủy

Phễu, ống đong, bình định mức, becher, erlen, burette, pipette

### 2. Hóa chất:

$K_3Fe(CN)_6$  1%

Đường glucoza 0,5% (w/v)

NaOH 5%; 2,5N

HCl 5%

$CCl_3COOH$  10%

Methyl red 1%

Methylen blue 0,04%

## III. Tiến hành:

### 1. Xử lý nguyên liệu:

- Nguyên liệu không chứa nhiều tinh bột hoặc inulin

Dùng nước nóng trích ly đường. Cân 1-2g mẫu nếu là nguyên liệu khô (cây, lá hoặc quả khô) hoặc 5 - 10g nếu là nguyên liệu tươi có hàm ẩm cao (rau, quả tươi). Cho vào cối sứ nghiền thật nhỏ với bột thủy tinh hay cát sạch và 30mL nước cất nóng 70 - 80°C. Trích ly nhiều lần bằng nước nóng. Chuyển lượng dịch vào bình định mức, bỏ phần bã đã trích hết đường.

- *Nguyên liệu giàu protein (mô động vật, đậu)*

Kết tủa protein và các tạp chất bằng dung dịch acid tricloacetic 10%, sau đó trung hòa bằng dung dịch NaOH 5% với chỉ thị methyl red (màu đỏ chuyển sang vàng).

Thêm nước cất tới vạch định mức, lọc qua giấy lọc vào cốc hay bình khô. Nước qua lọc là dung dịch định lượng đường khử.

- *Nguyên liệu chứa nhiều tinh bột hay inulin (khoai lang, sắn, khoai tây...)*

Trích ly đường bằng rượu 70 – 80°. Đun cách thủy hỗn hợp trong bình có lắp ống sinh hàn không khí. Trong trường hợp này không cần kết tủa protein vì lượng protein chuyển vào dung dịch không đáng kể.

- *Nguyên liệu chứa nhiều acid hữu cơ (cà chua, dứa, chanh, khế,...)*

Trong quá trình trích ly đường, sacaroza có thể bị thủy phân một phần do sự có mặt của acid hữu cơ có sẵn trong nguyên liệu, do đó khi cần xác định riêng đường khử và đường sacaroza, phải trung hòa acid hữu cơ bằng dung dịch NaOH 5% hay  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bão hòa.

Cân chính xác khoảng 10g nguyên liệu, nghiền nhuyễn nguyên liệu trong cối sứ với một ít nước cất. Nhỏ 3 giọt chỉ thị metyl đỏ (methyl red) và cho từ từ từng giọt NaOH 5% vào đến khi xuất hiện màu hồng nhạt. Sau đó cho hỗn hợp vào bình định mức 100ml để trích ly, lắc đều trong 10 phút, định mức tới vạch và đem lọc.

## **2. Định lượng đường khử:**

- Sau khi lọc, lấy dung dịch mẫu chứa đường khử, cho vào burette.
- **Cho vào bình nón 10ml dung dịch  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  1% và 2,5mL dung dịch NaOH 2,5N.**

- Đun sôi và chuẩn độ ngay trên bếp bằng dung dịch đường khử từ burette, cho từng giọt một, lắc mạnh.

- Dung dịch ban đầu có màu vàng chanh của ferricyanure. Điểm dừng chuẩn độ xác định khi màu vàng chanh biến mất, dung dịch trong suốt không màu trong khoảng 30 giây rồi chuyển sang màu vàng rơm rất nhạt của ferrocyanure. Trong trường hợp khó nhận điểm chuyển màu, có thể kiểm tra điểm kết thúc bằng cách nhỏ một giọt chỉ thị methylen blue và một giọt đường thừa đầu tiên sẽ làm mất màu xanh cho biết phản ứng đã kết thúc.

- Kết quả lần chuẩn độ đầu tiên chỉ có giá trị tham khảo cho lần chuẩn độ thứ hai. Lần này, sau khi đun sôi dung dịch ferricyanure, xả nhanh lượng đường (theo kết quả lần chuẩn độ trước), chỉ để lại khoảng dưới 1mL để chuẩn độ tiếp tìm chính xác điểm cuối.

- Kết quả tính toán chỉ sử dụng từ lần chuẩn độ thứ hai trở đi.

- Lặp lại thí nghiệm chuẩn độ 3 lần.

- Tính kết quả:

Trong thí nghiệm,  $V_k$  mL dung dịch mẫu và  $V_g$  mL dung dịch glucose 0,5% cùng phản ứng với một dung dịch ferricyanure ở một nồng độ xác định. Như vậy,  $V_k$  mL dung dịch mẫu tương ứng với  $V_g$  mL dung dịch glucose 0,5% có  $(0,5 \times V_g) / 100$  g glucose.

Lượng đường khử được tính bằng công thức:

$$X_k = \frac{0,5 \times V_g \times V \times 100}{100 \times V_k \times m}$$

Trong đó:

Xk – lượng đường khử, g/100g hay g/100mL

Vg – thể tích dung dịch glucose 0,5% cho chuẩn độ, mL

Vk – thể tích dung dịch đường khử cho chuẩn độ, mL

V – thể tích bình định mức, mL

m – lượng mẫu thí nghiệm, g hoặc mL

### 3. Định lượng đường tổng:

Đường tổng bao gồm các gluxit hòa tan trích ly được trong nước.

Cân chính xác khoảng 10g nguyên liệu, nghiền nhuyễn nguyên liệu trong cối sứ với một ít nước cất. Nhỏ 3 giọt chỉ thị metyl đỏ (methyl red) và cho từ từ từng giọt NaOH 5% vào đến khi xuất hiện màu hồng nhạt. Sau đó cho hỗn hợp vào bình định mức 100ml để trích ly, lắc đều trong 10 phút, định mức tới vạch và đem lọc. Lấy chính xác 50 mL dung dịch mẫu cho vào bình tam giác 250mL. Thêm 20mL dung dịch HCl 5%, và đem đun cách thủy hỗn hợp trong 30 – 45 phút.

Sau đó, làm nguội nhanh và trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch NaOH 2,5N hoặc dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bão hòa với chỉ thị methyl red (dung dịch từ màu đỏ chuyển sang vàng). Sau đó, cho vào bình định mức 250mL và định mức tới vạch.

Tiến hành chuẩn độ tương tự như định lượng đường khử.

Hàm lượng đường tổng được tính bằng công thức:

$$X_t = \frac{0,5 \times V_g \times V_1 \times V_2 \times 100}{100 \times V_t \times 50 \times m}$$

Trong đó:

X<sub>t</sub> – hàm lượng đường tổng, %

V<sub>g</sub> – thể tích dung dịch glucoza 0,5% cho chuẩn độ, mL

$V_t$  – thể tích dung dịch đường tổng cho chuẩn độ, mL

$V_1$  – thể tích bình định mức của dung dịch xác định đường khử, mL

$V_2$  – thể tích bình định mức của dung dịch xác định đường tổng, mL

$m$  – lượng mẫu cân thí nghiệm, g hoặc mL

**4. Định lượng glucose chuẩn 0,5%:** tiến hành thí nghiệm tương tự đối với dung dịch đường chuẩn là dung dịch glucose 0,5%. Thay lượng đường khử trên burette bằng dung dịch glucose chuẩn 0,5% và chuẩn độ tương tự như định lượng đường khử.

**BÀI 2:**

**ĐỊNH LƯỢNG NITƠ TỔNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP**

**MICRO-KJELDAHL**

Phương pháp Micro – Kjeldahl thường được dùng để xác định tổng lượng Nitơ trong các phẩm vật có nguồn gốc vi sinh vật.

**I. Nguyên tắc:**

Khi đốt nóng phẩm vật đem phân tích với  $H_2SO_4$  đậm đặc, các hợp chất hữu cơ bị oxy hóa. Carbon và Hydro tạo thành  $CO_2$  và  $H_2O$ . Còn Nitơ sau khi được giải phóng ra dưới dạng  $NH_3$  kết hợp với  $H_2SO_4$  tạo thành  $(NH_4)_2SO_4$  tan trong dung dịch. Đuổi  $NH_3$  khỏi dung dịch bằng NaOH đồng thời cất và thu  $NH_3$  bằng một lượng dư  $H_2SO_4$  0,1N. định phân lượng  $H_2SO_4$  0,1N còn lại bằng dung dịch NaOH 0,1N chuẩn, qua đó tính được lượng Nitơ có trong mẫu nguyên liệu thí nghiệm.

**II. Dụng cụ thiết bị:**

Máy cất đạm bán tự động GERHARDT, Tủ Hotte

Bình Kjeldahl 50mL

Ống đong 25mL

Pipette 2mL; 10mL

Erlen 500mL

Bình định mức 100mL

Burette 25mL

---

Becher 100mL; 250mL

### III. Hóa chất:

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc, NaOH 40%, HClO<sub>4</sub> tinh khiết

Dung dịch NaOH 0,1N dung dịch chuẩn H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N

Phenolphthalein 1%

### IV. Cách tiến hành:

#### 1. Vô cơ hóa mẫu: Tiến hành trong tủ Hotte.

Lấy mẫu cho vào bình Kjeldahl. Tùy loại nguyên liệu nhiều hay ít chất đạm, mẫu rắn cân 0,2 đến 0,5g mẫu lỏng lấy từ 2 đến 5mL (nước mắm lấy 2 mL, sữa lấy 5mL). Thêm vào từ từ 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc (tỉ trọng 1,84). Để tăng nhanh quá trình vô cơ hóa (đốt cháy) cần phải cho thêm chất xúc tác. Tốt nhất là dùng 0,5 g hỗn hợp K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : CuSO<sub>4</sub> : Se (100:10:1). Có thể dùng Se kim loại (0,05g) hoặc dùng hỗn hợp CuSO<sub>4</sub> : K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:3). Hỗn hợp xúc tác có tác dụng tăng nhiệt độ sôi, làm tăng vận tốc quá trình phản ứng. Có thể dùng xúc tác là axit Perchloric HClO<sub>4</sub>, giải phóng O<sub>2</sub> cho phản ứng Oxy hóa.

Sau khi thêm các chất xúc tác, đun nhẹ hỗn hợp tránh sôi trào, và chỉ đun mạnh khi hỗn hợp đã hoàn toàn chuyển sang dịch lỏng. Trong quá trình đun thỉnh thoảng lắc nhẹ, tránh khéo léo sao cho không còn một vết đen nào của mẫu nguyên liệu thí nghiệm chưa bị phân hủy sót lại trên thành bình. Đun cho tới khi dung dịch trong bình hoàn toàn trắng.

#### 2. Cất đạm:

Tiến hành trong máy cất đạm bán tự động GERHARDT của Đức.

Chuẩn bị máy cất đạm: cắm điện, bật máy, màn hình sẽ hiện lên "H", chờ cho đến khi màn hình hiện lên "P", máy đã sẵn sàng làm việc.



Chuyển toàn bộ dung dịch mẫu sau khi đã vô cơ hóa xong ở bình Kjeldahl vào bình định mức 100mL (chú ý: lúc này trong bình Kjeldahl còn dư 1 lượng  $H_2SO_4$  đậm đặc trong dung dịch mẫu của quá trình vô cơ hóa nên phải cho trước 1 ít nước cất vào bình định mức trước khi đổ dung dịch mẫu vào), thêm nước cất cho đến vạch định mức. Lúc này nhiệt tỏa ra rất mạnh làm nước bay hơi một phần. Làm nguội bình định mức và điều chỉnh lại mức nước để tránh sai số, sau đó đổ ra erlen để dễ lắc trộn dung dịch mẫu đồng đều.

- Lấy 10mL dung dịch  $H_2SO_4$  0.1N cho vào erlen 250ml, lắp vào máy. Chú ý nhúng ngập ống vào dịch lỏng.

- Lấy vào ống phản ứng 10 mL dung dịch thí nghiệm từ bình định mức. Lắp vào hệ thống, chú ý không lắp lệch, khí sẽ thoát ra ngoài, mất mẫu.

- Khi hết thời gian cất đạm, lấy erlen ra đem chuẩn độ để xác định lượng  $H_2SO_4$  0.1.N thừa.

### **3. Định phân (chuẩn độ):**

Lấy erlen ra khỏi máy sau khi đã tráng nước cất để lấy hết mẫu bám trên ống. Cho vào 10 giọt chỉ thị Phenolphthalein, và định phân bằng dung dịch NaOH 0,1N.

### **4. Xác định hệ số hiệu chỉnh K:**

- K là tỷ số giữa nồng độ thực tế và nồng độ tính toán của NaOH.
- Lấy vào erlen 10 mL  $H_2SO_4$  0,1N chuẩn, thêm vài giọt chỉ thị phenolphthalein 1% và định phân bằng NaOH 0,1N.
- Tính nồng độ thực tế của NaOH đem định phân.

**5. Tính kết quả:**

Hàm lượng phần trăm Nitơ tổng có trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$N = \frac{(a - bK) \times 0,0014 \times V \times 100}{v \times m}$$

Trong đó:

N – hàm lượng Nitơ tính bằng phần trăm khối lượng

a – số mL dung dịch chuẩn  $H_2SO_4$  0,1N đem hấp thụ  $NH_3$

b – số mL NaOH 0,1N tiêu tốn cho chuẩn độ

m – khối lượng mẫu đem vô cơ hóa, g.

V- tổng thể tích định mức dung dịch vô cơ hóa (100mL)

v- thể tích dung dịch vô cơ hóa dùng chưng cất (10mL)

0,0014 – lượng gam Nitơ ứng với 1mL  $H_2SO_4$  0,1N

K – Hệ số điều chỉnh nồng độ NaOH 0,1N

**BÀI 3 :****PHẦN I: ĐỊNH LƯỢNG LIPIT TỔNG THEO****PHƯƠNG PHÁP SOXHLET****I. Nguyên tắc:**

Dùng dung môi kỵ nước trích ly hoàn toàn lipit từ nguyên liệu đã được nghiền nhỏ. Một số thành phần hòa tan trong chất béo cũng được trích ly theo bao gồm sắc tố, các vitamin tan trong chất béo, các chất mùi... tuy nhiên hàm lượng của chúng thấp. Do có lẫn tạp chất, phần trích ly được gọi là lipit tổng hay dầu thô.

Hàm lượng lipit tổng có thể tính bằng cách cân trực tiếp lượng dầu sau khi chưng cất loại sạch dung môi hoặc tính gián tiếp từ khối lượng bã còn lại. Ưu điểm của cách tính gián tiếp là có thể đồng thời trích ly nhiều mẫu trong cùng một trụ chiết.

**II. Dụng cụ thiết bị:**

Bộ Soxhlet (bình cầu, trụ chiết, ống sinh hàn),

Tủ sấy 105°C, cân phân tích

Cối chày sứ, bình hút ẩm, giấy lọc gấp thành túi đựng nguyên liệu.

Một bóng đèn 100w làm nguồn nhiệt

**III. Hoá chất:**

Dung môi trích ly lipit: diethyl ether hoặc ether petrol. Dung môi ether phải không chứa peroxyt, nước, rượu và có độ sôi khoảng 40 – 50°C. Xử lý ether như sau:

Ether: 500mL

Dung dịch NaOH hay KOH 40%: 5mL

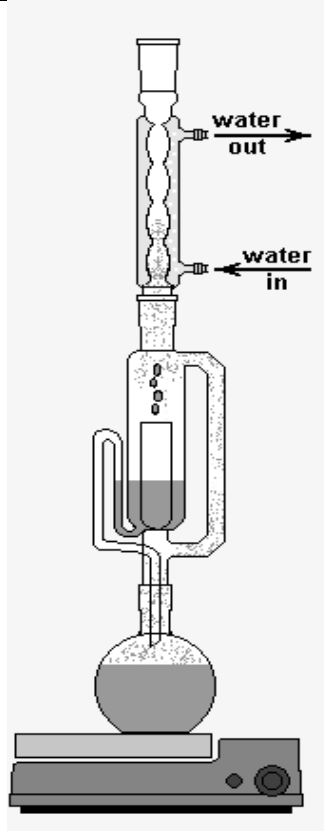
Dung dịch  $\text{KMnO}_4$  4%:50mL

Để trong 24 giờ, thỉnh thoảng lắc đều, sau đó rửa 4 – 5 lần nước cất, loại bỏ nước bằng phễu chiết, cho thêm 50g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan và để trong 24 giờ, chưng cất ether, bảo quản trong chai thủy tinh màu.

#### IV. Tiến hành trích ly lipid:

Sấy khô nguyên liệu đến khối lượng không đổi. Cân chính xác 5g nguyên liệu đã được nghiền nhỏ, cho vào bao giấy đã được sấy khô và biết khối lượng. Chú ý gói mẫu phải có bề rộng nhỏ hơn đường kính ống trụ và chiều dài ngắn hơn chiều cao ống chảy tràn. Dùng bút chì viết lên bao giấy khối lượng bì và mẫu. Đặt bao giấy vào trụ chiết. Lắp trụ chiết vào bình cầu và gắn ống sinh hàn. Qua đầu ống sinh hàn, dùng phễu cho dung môi vào trụ chiết sao cho một lượng dung môi đã chảy xuống bình cầu và một lượng trên phễu chiết còn đủ ngập mẫu. Dùng bông làm nút đầu ống sinh hàn. Mở nước lạnh vào ống sinh hàn. Mở công tắc đèn và bắt đầu trích lipid. Điều chỉnh nhiệt độ trích sao cho chu kỳ hoàn lưu của dung môi đạt từ 5 đến 8 lần trong một giờ. Chiết trong 8 ÷ 12h cho đến khi trích ly hoàn toàn hết chất béo. Thử bằng cách lấy vài giọt ether ở cuối ống xiphông nhỏ lên tấm kính hoặc gạch men, dung môi bay hơi không để lại vết dầu loang thì kết thúc.

Cho ether chảy xuống hết bình cầu. Lấy bao giấy ra, đặt dưới tủ hotte cho bay hơi hết ether ở nhiệt độ thường rồi cho vào tủ sấy, sấy ở 100 ÷ 105°C trong 1,5h. Để nguội trong bình hút ẩm, cân xác định khối lượng.



Hình : Bộ Soxhlet

#### V. Tính kết quả:

Hàm lượng phần trăm chất béo tính theo công thức:

$$X = (M_1 - M_2) \times 100 / m$$

Trong đó:

$M_1$ : khối lượng bao giấy và mẫu ban đầu, g

$M_2$ : khối lượng bao giấy và mẫu sau khi trích lipid và sấy khô, g

$m$ : khối lượng mẫu ban đầu, g

---

## PHẦN II: XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ CỦA CHẤT BÉO

### I. Xác định chỉ số axit:

#### 1. Phạm vi áp dụng:

Phương pháp này áp dụng cho dầu mỡ động, thực vật, không áp dụng cho các loại sáp.

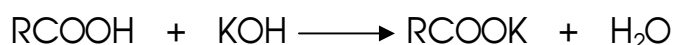
#### 2. Định nghĩa:

Chỉ số axit (Av) được tính bằng số mg KOH cần để trung hòa hết lượng axit béo tự do có trong 1 gam chất béo.

Chỉ số axit dự báo về khả năng bảo quản sản phẩm và cho biết mức độ bị thủy phân của chất béo.

#### 3. Nguyên tắc:

Trung hòa lượng axit béo tự do có trong chất béo bằng dung dịch KOH, phản ứng xảy ra:



#### 4. Dụng cụ:

Burette 10mL hoặc 25mL, có khoảng chia độ 0,05mL, erlen 100mL nút nhám, becher 100mL, ống đong 25mL

#### 5. Hóa chất:

Diethyl ether, rượu ethylic 96<sup>0</sup>

Dung dịch KOH 0,1N hoặc KOH 0,05N trong rượu, đã được chuẩn bị trước ít nhất là một ngày và được gạn vào chai nâu đậy kín. Dung dịch phải không màu hay có màu vàng nhạt.

Phenolphthalein (hoặc thymolphthalein) 1% trong rượu.

## 6. Cách tiến hành:

Lấy vào erlen sạch khô chính xác khoảng 5g chất béo. Thêm 20mL hỗn hợp ether ethylic-rượu ethylic (1:1) để hòa tan chất béo. Đối với mẫu rắn, khó tan có thể gia nhiệt nhẹ trên nồi cách thủy, lắc đều.

Chuẩn độ hỗn hợp bằng dung dịch KOH 0,05N trong rượu với 5 giọt chỉ thị phenolphthalein 1% cho đến khi dung dịch có màu hồng bền trong 30 giây.

Trường hợp chất béo có màu thẫm thì dùng chỉ thị thymolphthalein (1mL), kết thúc chuẩn độ khi xuất hiện màu xanh.

## 7. Tính kết quả:

Chỉ số Axit tính theo công thức:

$$AV = \frac{2,8055 \times V \times T}{m}$$

V – thể tích dung dịch KOH dùng định phân, mL

T – hệ số hiệu chỉnh nồng độ của dung dịch KOH sử dụng, T = 1 nếu pha từ ống chuẩn.

m – lượng mẫu thí nghiệm, g

2,8055 – số mg KOH có trong 1mL KOH 0,05N

## II. Xác định chỉ số peroxyt:

(Theo TCVN 6021: 1996 ISO 3960: 1977 )

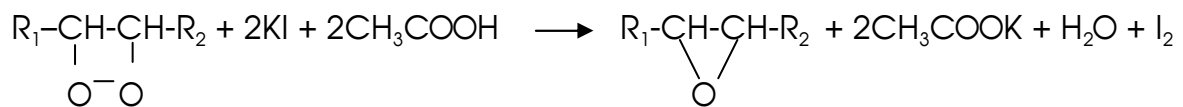
### 1. Định nghĩa:

Chỉ số Peroxyt (PoV) là số mili-đương lượng của oxy hoạt hóa có trong 1 kilogram mẫu thử.

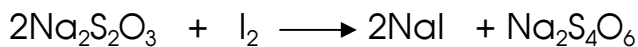
Chỉ số Peroxyt biểu thị cho mức độ bị oxy hóa của chất béo.

## 2. Nguyên tắc:

Các peroxyt tạo thành trong quá trình ôi hóa của chất béo, trong môi trường axit có khả năng phản ứng với KI giải phóng iod theo phản ứng:



Định phân iod tạo thành bằng dung dịch thiosulfate natri:



Chỉ số peroxyt được tính bằng số mili- đương lượng natri thiosulfate kết hợp hết với lượng iod được giải phóng.

## 3. Dụng cụ:

Cân phân tích, burette 10mL hay 25mL, chia vạch 0,1mL, erlen nút nhám 100mL, ống đong 50mL, pipette 1mL

## 4. Hóa chất:

Cloroform (P). Axit Axetic băng (P). Dung dịch hồ tinh bột 0,1%

Dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01N hay 0,002N, được pha từ ống chuẩn.

Dung dịch KI bão hòa, được pha mới và làm sạch khỏi iodat và  $\text{I}_2$  tự do. Để kiểm tra dung dịch KI bão hòa, thêm hai giọt hồ tinh bột vào 0,5mL dung dịch KI trong 30mL dung dịch  $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CHCl}_3$  theo tỷ lệ 3: 2, nếu có màu xanh mà phải thêm hơn một giọt  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01N thì bỏ dung dịch KI này và chuẩn bị dung dịch mới.

## 5. Tiến hành:

Cân vào erlen có nút nhám chính xác khoảng 3 – 5 g chất béo. Hòa tan mẫu thử bằng 10mL chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), thêm 15mL axit axetic hoặc



cho vào 15 – 30 mL hỗn hợp chloroform – axit axetic băng (tỷ lệ 1: 2). Thêm 1mL dung dịch KI bão hòa. Đậy kín erlen ngay. Lắc trong một phút và để yên chính xác 5 phút ở nơi tối  $T^{\circ} = 15 - 25^{\circ}\text{C}$  (theo ISO) hoặc lắc và để yên bình vào chỗ tối 1 phút (theo AOCS).

Thêm 30mL nước cất, lắc mạnh, thêm 5 giọt hồ tinh bột 1% làm chất chỉ thị. Chuẩn độ iod tạo thành bằng dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,002N nếu mẫu có chỉ số Peroxyt nhỏ, hoặc dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01N cho mẫu có chỉ số Peroxyt lớn hơn 12 meq/kg, đến khi mất màu tím đặc trưng của iod. Lặp lại thí nghiệm 3 lần.

Tiến hành đồng thời thí nghiệm kiểm chứng, thay chất béo bằng 3 – 5 mL nước cất. Nếu kết quả của mẫu trắng vượt quá 0,1mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01N thì đổi hóa chất do không tinh khiết.

#### 6. Tính kết quả:

$$PoV = \frac{(V_1 - V_2) \times T \times N \times 1000}{m}$$

Với:

PoV – chỉ số peroxyt, Meq / Kg

$V_1$  – số mL  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dùng định phân mẫu thí nghiệm

$V_2$  – số mL  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dùng định phân mẫu kiểm chứng

T – hệ số hiệu chỉnh nồng độ của  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , T=1 nếu pha từ ống chuẩn

m – khối lượng mẫu thí nghiệm, g

N – nồng độ đương lượng gam của  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Phép thử được tiến hành trong ánh sáng ban ngày khuếch tán hoặc ánh sáng nhân tạo, tránh tia cực tím.

**Bài 4****PHẦN 1: XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH ENZYM AMYLASE**  
**THEO WOHLGEMUTH*****I. Nguyên tắc:***

Phương pháp dựa vào tìm nồng độ enzym thấp nhất có thể thủy phân tinh bột đến erytrodextrin.

Đơn vị Wohlgemuth là lượng enzym cần thiết để thủy phân 1 mg tinh bột sau 30 phút ở 37°C có Cl<sup>-</sup> làm chất hoạt hóa.

***II. Dụng cụ và hoá chất:***

11 ống nghiệm, pipet 1ml (4 cái), tủ ấm, NaCl 0,5%, tinh bột 0,5%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, Iod 0,3% trong KI 3%.

***III. Tiến hành:******1. Chuẩn bị dịch chiết amylase.***

Cân 10 g malt (hạt đại mạch), đem nghiền nhuyễn, chuyển vào bình định mức 100ml, định mức đến 100ml, lắc thật kỹ.

Ngâm 15 phút, thỉnh thoảng lắc đều bình định mức.

Lọc qua 2 tờ giấy lọc mịn, thu được dịch trong suốt chứa enzym amylase.

***2. Tiến hành khảo sát hoạt tính amylase.***

Lấy 10 ống nghiệm đánh số thứ tự. Hút vào mỗi ống nghiệm 1 ml dung dịch NaCl 0,5%. Trong ống nghiệm 1 cho vào 1ml dung dịch amylase và lắc kỹ. Sau đó lấy 1 ml từ ống nghiệm 1 cho vào ống nghiệm

2, lắc kỹ và lấp lại cho tới ống nghiệm 10 thì hút 1ml và bỏ đi. Trong mỗi ống nghiệm cho vào 1 ml dung dịch hồ tinh bột 0,5% lắc đều, để vào tủ điều nhiệt ở 37°C. Sau 30 phút lấy ra, thêm vào mỗi ống 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% và 2 giọt iod trong KI lắc đều. Kết quả được thể hiện trong bảng, có đánh dấu xanh ( x ), đỏ ( đ ), nâu ( n ), vàng ( v ).

Ống nghiệm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ pha loãng	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Nồng độ enzym	n/2	n/4	n/8	n/16	n/32	n/64	n/128	n/256	n/512	n/1024
Màu										

Lấy 1 ống nghiệm khác (ống thứ 11) cho vào 3 ml nước cất, 2 giọt thuốc thử iod và so sánh với màu của 10 ống nghiệm trên để xác định ống có nồng độ enzym amylase thấp nhất thủy phân hoàn toàn tinh bột.

### 3. Tính kết quả:

- Lượng enzym được cho vào ống nghiệm (1):

$$n = \frac{m \times V_1}{V_2}$$

Trong đó:

V<sub>1</sub>- Thể tích dịch chiết enzym cho vào ống nghiệm (1) (1ml)

V<sub>2</sub>- Thể tích dịch chiết enzym (100 ml )

m- Lượng mẫu cân vật phẩm chứa enzym (mg)

Một đơn vị Wohlgemuth (W):

$$W = \frac{n}{F \times 5}$$

Trong đó :

F- Độ pha loãng của ống nghiệm có nồng độ enzym thấp nhất thủy phân hoàn toàn tinh bột (Ống nghiệm có màu trùng với màu của ống nghiệm 11).

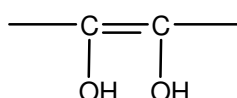
Số đơn vị Wohlgemuth có trong 1 ml dịch chiết enzym ( $N_w$ ):

$$N_w = \frac{n}{V_1 \times W}$$

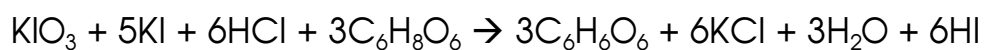
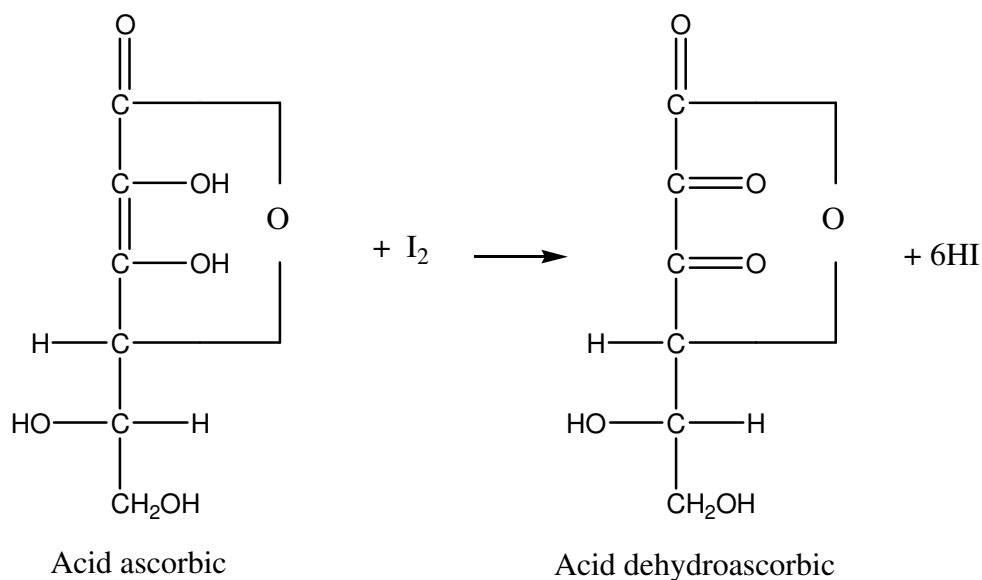
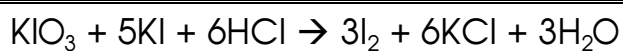
## PHẦN 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG VITAMIN C

### ***I. Nguyên tắc:***

Acid ascorbic (Vitamin C) là một hợp chất chứa no có chứa nhóm endiol. Acid ascorbic bị phá hủy rất nhanh dưới tác dụng của các chất oxy hóa và bền trong môi trường acid. Phương pháp dựa trên nguyên tắc là acid ascorbic có khả năng oxy hóa khử thuận nghịch nhờ trong phân tử của nó chứa nhóm endiol.



Vì vậy acid ascorbic được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  theo các phản ứng sau:



## II. Hoá chất- dụng cụ:

- Cối chày sứ
- Bình định mức 100 ml
- Phễu thủy tinh  $\Phi$  6 cm
- Pipette 10 ml
- Cốc thủy tinh 100 ml
- Burette 25 ml
- Erlen 50 ml
- HCl 1%
- $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N
- Hồ tinh bột 1%

**III. Tiến hành:**

Cân lấy vào cối sứ lượng mẫu thí nghiệm (chanh, cam, sori, ớt, cà chua...) chính xác khoảng 3 g. Thêm một lượng HCl 1% vừa đủ vào cối để mẫu thí nghiệm được ngâm kín hoàn toàn trong dung dịch acid. Nghiền cẩn thận mẫu nguyên liệu. Chuyển toàn bộ hỗn hợp vào bình định mức 100 ml. Định mức đến vạch bằng dung dịch HCl 1%.

Nếu mẫu ở dạng dịch lỏng, không cần qua giai đoạn nghiền, chuyển ngay vào bình định mức.

Lấy vào erlen 10 ml dung dịch có chứa vitamin C từ bình định mức (nếu khó hút vì vướng bã thì đổ dung dịch có chứa vitamin C từ bình định mức ra cốc 100 ml, chờ bã nổi lên phía trên hoặc xuống dưới thì đặt đầu pipet vào khoảng giữa không vướng bã thực hiện hút mẫu), thêm vài giọt hồ tinh bột 1% và đem định phân bằng  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N tới khi xuất hiện màu xanh đen.

Tiến hành song song các mẫu kiểm chứng. Hút 10ml dung dịch HCl 1% thêm vài giọt hồ tinh bột 1% và đem định phân bằng  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N tới khi xuất hiện màu xanh đen.

Phải tiến hành ít nhất hai mẫu thí nghiệm, mỗi mẫu định phân ba lần, kết quả hai lần định phân không được sai lệch quá 0.03 ml.

**IV. Tính kết quả:**

Hàm lượng vitamin C trong mẫu thí nghiệm được tính bằng công thức:

$$X = \frac{(a - b) \times 0.088 \times 100 \times 100}{10 \cdot m}$$

Trong đó:

X: Hàm lượng vitamin C (mg/100g)

a: Số ml  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N dùng định phân dịch chiết vitamin C

b: Số ml  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N dùng định phân mẫu kiểm chứng

100: Thể tích bình định mức (ml)

m: Lượng mẫu thí nghiệm (g)

0.088: Số mg acid ascorbic ứng với 1 ml dung dịch  $\text{KIO}_3/\text{KI}$  0.001N