



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

ĐẬU HẠT

PHƯƠNG PHÁP THỬ

TCVN 4295 — 86



HÀ NỘI

Cơ quan biên soạn:

Cục quản lý chất lượng hàng hóa và đo lường
Bộ Nội thương

Cơ quan đề nghị ban hành:

Bộ Nội thương

Cơ quan trình duyệt:

Tổng cục Tiêu chuẩn — Đo lường — Chất lượng
Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước

Cơ quan xét duyệt và ban hành:

Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước

Quyết định ban hành số: 634/QĐ ngày 13 tháng 9 năm 1986



ĐẬU HẠT Phương pháp thử		TCVN 4295 -- 86
Горох Методы испытаний	Pea bean Test methods	Có hiệu lực từ 01-7-1987

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp thử cảm quan và lý hóa áp dụng đối với đậu tương (*Glycine max*), đậu xanh (*phaseolus radiatus*), đậu đen (*phaseolus mungo*) và đậu trắng (*dolichos Catjang*) ở dạng khô.

1. LẤY MẪU

1.1. Định nghĩa

1.1.1. Lô hàng đồng nhất là khối lượng đậu hạt cùng loại, cùng hàng chất lượng, được sản xuất trong cùng một thời vụ ở cùng một vùng, được đóng gói trong cùng một loại bao bì (hoặc để rời trong cùng một loại phương tiện chứa đựng), được giao nhận cùng một thời gian, bảo quản trong cùng một kho hoặc cùng một điều kiện và không lớn hơn 10 T

1.1.2. Mẫu ban đầu là lượng mẫu lấy ở một vị trí trong một đơn vị bao gói được chỉ định lấy mẫu hoặc ở một vị trí (trên, dưới hoặc giữa theo phương thẳng đứng) đối với lô hàng để rời.

1.1.3. Mẫu riêng là lượng mẫu tập hợp từ các mẫu ban đầu của một đơn vị bao gói (thường là hai mẫu ban đầu).

1.1.4. Mẫu chung là lượng mẫu được tập hợp từ tất cả các mẫu riêng được lấy từ lô hàng đậu hạt.

1.1.5. Mẫu trung bình là lượng mẫu được thành lập từ mẫu chung để xác định các chỉ tiêu chất lượng của lô hàng đậu hạt.

1.1.6. Mẫu phân tích (lượng cân) là lượng mẫu được rút ra từ mẫu trung bình dùng để xác định từng chỉ tiêu chất lượng riêng biệt của lô hàng đậu hạt.

1.2. Lấy mẫu

1.2.1. Lấy mẫu ở lô hàng để rời:

San phẳng mặt lô hàng đậu hạt, sử dụng xiên lấy mẫu có độ dài phù hợp với độ dày của lô hàng. Dùng xiên dài bằng kim loại có ba khoang chứa mẫu, lấy tại năm điểm theo đường chéo của bề mặt lô hàng. Khối lượng mẫu ban đầu được lấy sao cho khối lượng mẫu chung không nhỏ hơn 3kg. Đảo đều mẫu chung, phân mẫu bằng phương pháp chia chéo để lập mẫu trung bình, khối lượng mẫu trung bình không nhỏ hơn 3 kg. Trong trường hợp mẫu chung có khối lượng xấp xỉ 3 kg thì được coi là mẫu trung bình.

1.2.2. Lấy mẫu ở lô hàng bao gói:

Lấy ngẫu nhiên số bao ở các vị trí trên dưới, giữa lô hàng, lượng bao chỉ định lấy mẫu phụ thuộc vào khối lượng lô hàng nhưng không được nhỏ hơn số lượng quy định sau:

- Từ 1 đến 5 bao lấy mẫu ở tất cả các bao
- Từ 6 đến 100 bao: lấy mẫu 5 bao cộng 5% số bao trong lô.
- Trên 100 bao: lấy mẫu 10 bao cộng 5% số bao trong lô

Từ các bao được chỉ định lấy mẫu, dùng xiên lấy mẫu ở các vị trí phần trong và phần ngoài trong mỗi bao. Khối lượng mẫu ban đầu lấy sao cho khối lượng mẫu chung không nhỏ hơn 3 kg. Trộn đều mẫu chung và lập mẫu trung bình theo mục 1.2.1.

1.2.3. Mẫu trung bình được đựng trong các túi PE, huộc kín và có dính nhãn:

- Tên cơ sở có lô hàng;
- Tên sản phẩm và hàng chất lượng;
- Số ký hiệu và khối lượng lô hàng;
- Địa điểm, thời gian lấy mẫu;
- Khối lượng mẫu;
- Người lấy mẫu;
- 1.3. Chuẩn bị mẫu phân tích:

Để xác định các chỉ tiêu chất lượng bằng phương pháp hóa học, lượng mẫu phân tích cần được chuẩn bị theo trình tự sau:

Cân kĩ oảng 300 g đậu hạt từ mẫu trung bình, loại trừ tạp chất và các hạt hỏng. Xay hoặc nghiền nhanh lượng đậu trên thành các mảnh lọt qua rây có đường kính mắt lưới 1mm, trộn nhanh và cho

vào lọ thủy tinh nút mài. Mẫu đã chuẩn bị phải được bảo quản nơi khô mát và không được để quá 90 phút đối với phương pháp xác định hàm lượng nước và 180 phút đối với các chỉ tiêu khác.

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. Phân loại hạt và xác định tạp chất

2.1.1. Dụng cụ và thiết bị

- Cân kỹ thuật có độ chính xác 0,01 g
- Sàng lưới kim loại hoặc đục lỗ (có kích thước mắt lưới hoặc lỗ đục phù hợp với quy định trong tiêu chuẩn yêu cầu kỹ thuật)
- Khay men trắng
- Kẹp gấp hạt
- Cốc thủy tinh có dung tích 50, 100 và 250 ml

2.1.2. Tiến hành thử

Từ mẫu trung bình cân chính xác 200 g mẫu, cho vào sàng khô sạch (theo 2.1.1) Lắc với tốc độ 150 – 160 lần trong một phút. Đồ phần còn lại trên sàng sang khay men trắng. Nhặt các tạp chất lớn còn lại trên sàng cân gộp với phần tạp chất nhỏ đã lọt qua sàng. Sau đó dùng kẹp nhặt riêng từng loại đậu theo yêu cầu kỹ thuật bỏ riêng vào từng cốc thủy tinh khô, sạch và đã được xác định khối lượng, cân riêng từng cốc để xác định khối lượng tạp chất và từng loại hạt.

2.1.3. Tính kết quả:

Từng loại hạt hoặc tạp chất được tính bằng phần trăm khối lượng (X_i) theo công thức:

$$X_i = \frac{a}{m} \cdot 100 ;$$

trong đó: m: khối lượng mẫu thử tính bằng g;

a: khối lượng của từng loại hạt hoặc tạp chất tính bằng gam

Kết quả thử là trung bình cộng của hai lần xác định đồng thời và được biểu thị tới số lẻ thứ hai.

Sai khác giá trị của hai lần xác định không được vượt quá 0,05%.

2.2. Xác định màu sắc:

2.2.1 Dụng cụ

- Cân kỹ thuật loại 200 g;
- Khay men trắng hoặc giấy trắng;
- Phòng xác định có đủ độ sáng tự nhiên.

2.2.2. Tiến hành thử:

Từ lượng mẫu đã được làm sạch (theo 2.1.2) cân khoảng 100 g. mẫu, trải đều lượng mẫu trên khay men trắng hoặc giấy trắng, dùng mắt thường nhận biết màu sắc của đậu hạt dưới ánh sáng tự nhiên hoặc ánh sáng nhân tạo tương tự ánh sáng tự nhiên.

2.3. Xác định mùi

2.3.1. Xác định trực tiếp: xác định trực tiếp mùi của đậu hạt ngay khi mở bao bì chứa mẫu trung bình. Trong trường hợp khó phân biệt hoặc nghi có mùi lạ, được phép dùng phương pháp gia nhiệt.

2.3.2. Xác định mùi bằng phương pháp gia nhiệt

a) Dụng cụ:

- Cân kỹ thuật loại 200 g
- Cốc thủy tinh dung tích 150 ml
- Mặt kính tròn có đường kính phù hợp với miệng cốc
- Sàng kim loại có đường kính lỗ sàng nhỏ hơn 1 mm
- Nước nóng 60° — 70° C hoặc bình nước sôi

b) Tiến hành thử

Phương pháp gia nhiệt tiến hành xác định mùi của đậu hạt trên hạt nguyên lấy trực tiếp từ mẫu trung bình, khi cần có thể xác định trên lượng mẫu nghiền (đã được chuẩn bị theo 1.3).

Cân khoảng 100 g mẫu từ mẫu trung bình (hoặc từ mẫu đã được chuẩn bị theo 1.3), cho vào cốc thủy tinh, đổ nước nóng 60–70° C cho tới khi ngập mẫu, đậy cốc bằng mặt kính. Sau 2–3 phút, gạn nước và xác định mùi của mẫu. Hoặc trải đều lượng mẫu trên sàng (theo mục a) đặt trên bình nước sôi sau 2–3 phút lấy sàng ra và xác định mùi của mẫu.

2.4. Xác định vị

2.4.1. Dụng cụ

- Cân kỹ thuật loại 200 g
- Cốc thủy tinh dung tích 50 ml
- Mặt kính tròn có đường kính phù hợp với miệng cốc

- Nước cất
- Bếp điện

2.4.2. Tiến hành thử

Cân khoảng 5g mẫu nghiền (theo 1.3.) cho vào cốc đồ nước cất ngập mẫu, đầy cốc bằng mặt kính. Sau 5 phút nếm thử nước ngâm đầu (nếm nhưng không nuốt). Trong trường hợp vị chưa rõ có thể thử bằng phương pháp gia nhiệt. Cân lượng mẫu như trên cho nước cất ngập mẫu, đun sôi 20 phút trên bếp điện, để nguội và nếm để xác định vị.

2.5. Xác định độ sượng (trừ đậu tương):

2.5.1 Dùng cân kỹ thuật cân khoảng 50g đậu hạt, cho đậu, vào cốc thủy tinh dung tích 250 ml đồ nước ngập đậu, đầy kín cốc bằng mặt kính tròn đun sôi 30 phút.

Sau đó vớt hạt đậu lên sàng có kích thước lỗ nhỏ hơn hạt đậu, để nguội và ráo nước. Lấy tùy ý 100 hạt dùng ngón tay bóp nát hạt đậu để xác định độ sượng của hạt (những hạt bóp nát mịn trên ngón tay là hạt không sượng, còn những hạt bóp không nát mịn hoặc còn nhân cứng bên trong là hạt sượng) làm như trên 2 lần. Kết quả là trung bình cộng của 2 lần xác định.

2.5.2. Kết quả xác định độ sượng của đậu hạt được biểu thị bằng % số hạt.

Từ kết quả % số hạt sượng dựa vào kết quả xác định khối lượng 1000 hạt để tính chuyển ra % theo khối lượng. Trường hợp không làm chỉ tiêu khối lượng 1000 hạt có thể lấy ngẫu nhiên 100 hạt đậu chưa đun, cân để tính chuyển kết quả trên ra % theo khối lượng.

2.6. Xác định mức độ sâu mọt

2.6.1. Xác định sâu mọt sống ngoài hạt

a) Dụng cụ

- Cân kỹ thuật chính xác 0,01g
- Sàng 2 lớp có đáy và nắp có đường kính lỗ lớp trên 3,5mm, lớp dưới 2 mm
- Thước gỗ
- Cặp kim loại
- Kính lúp có độ phóng đại 10 lần
- Khay men trắng hình chữ nhật hoặc giấy trắng

b) Tiến hành thử

Dùng thước gỗ tròn và dàn mỏng đậu hạt từ mẫu trung bình, chia chéo để lấy 200 g cho vào lớp sàng trên cùng, đẩy nắp lại, lắc sàng theo chiều tròn bằng khoảng 2 phút. để ngăn sàng dưới và đáy sàng ra 2 khay men hoặc 2 tờ giấy trắng. Dùng cặp kim loại gấp và đếm tất cả số sâu một sống. Dùng kính lúp soi để tìm các dạng sống khác của sâu một (sâu non, hoặc nhộng). Cần chú ý đếm số sâu một trưởng thành có thể bay ra ở lớp sàng trên cùng.

2.6.2. Xác định sâu một nằm trong hạt và hạt sâu một:

a) Dụng cụ:

- Cân kỹ thuật chính xác 0,01 g
- Dao nhỏ mỏng lưỡi và sắc
- Cặp kim loại
- Khay men trắng hình chữ nhật hoặc giấy trắng

b) Tiến hành thử:

Cân khoảng 15 g đậu hạt từ mẫu đã sàng ở mục (2.6.1) dùng cặp kim loại chọn và gấp các hạt bị một và có trứng một ngli có một bên trong, dùng dao cắt đôi hạt sâu một để tìm sâu một trong hạt (chỉ cắt những hạt có vết sâu một đục và có trứng sâu một ở ngoài vỏ). Đem cân số hạt sâu một đục và những hạt cắt ra có sâu một (m_0):

2.6.3. Tính kết quả

a) Số sâu một sống trong 1 kg đậu hạt (X_2) tính theo công thức:

$$X_2 = \left(\frac{a}{m_1} + \frac{b}{m_2} \right) 1000$$

trong đó:

a) số sâu một sống nằm trong hạt theo mục 2.6.1;

b) số sâu một sống nằm trong trong hạt theo mục 2.6.2;

m_1 ; m_2 : khối lượng mẫu thử tính bằng g theo mục 2.6.1 và 2.6.2;

1000: hệ số tính cho 1 kg đậu hạt

Kết quả cuối cùng được quy tròn về hàng đơn vị theo TCVN 1517-74,

b) Số hạt bị sâu một tính bằng % khối lượng (X_3) theo công thức:

$$X_3 = \frac{m_0}{m_2} \times 100$$

trong đó

m_0 — khối lượng hạt bị sâu một theo mục 2.6.2;

m_2 — khối lượng mẫu thử theo mục 2.6.2;

2.7. Xác định hàm lượng nước:

2.7.1. Hàm lượng nước của đậu hạt được xác định theo nguyên lý sấy đậu hạt đã nghiền nhỏ trong tủ sấy điện đến khối lượng không đổi.

2.7.2. Dụng cụ và thiết bị

- Tủ sấy điện điều chỉnh nhiệt độ ở $105 \pm 2^\circ \text{C}$
- Cân phân tích có độ chính xác 0,0002 g
- Hộp kim loại hoặc chén cân thủy tinh;
- Cặp kim loại để gấp hộp hoặc chén cân;
- Bình hút ẩm

2.7.3. Tiến hành thử

Từ mẫu đã được chuẩn bị (theo 1.3) cân 5 g mẫu chính xác tới 0,001 g, cho mẫu vào hộp hoặc chén cân đã sấy khô đến, khối lượng không đổi và được xác định khối lượng. Đặt hộp chứa mẫu vào tủ sấy, mở nắp hộp và sấy mẫu trong hai giờ kể từ khi nhiệt độ buồng sấy đạt $105 \pm 2^\circ \text{C}$. Sau đó dùng kẹp gấp hộp hoặc chén cân chứa mẫu đậy nắp và làm nguội trong bình hút ẩm khoảng 30 phút. Cân và ghi khối lượng hộp, chứa mẫu đã sấy chính xác tới 0,001 g. Tiếp tục sấy mẫu khoảng 45 phút, làm nguội, cân lần thứ hai. Nếu sai lệch giá trị giữa hai lần cân vượt quá 0,001 g thì mẫu phải được sấy thêm tới khi sai lệch giá trị giữa hai lần cân không vượt quá 0,001 g.

2.7.4. Tính kết quả

Hàm lượng nước tính bằng phần trăm khối lượng (X_4) theo công thức:

$$X_4 = \frac{m - m_1}{m - m_0} \cdot 100$$



trong đó:

m : khối lượng hộp hoặc chén cân chứa mẫu thử trước khi sấy tính bằng g;

m_1 : khối lượng hộp hoặc chén cân chứa mẫu thử sau khi sấy tính bằng g;

m_0 : khối lượng hộp hoặc chén cân tính bằng g;

Kết quả thử là trung bình cộng của hai lần xác định đồng thời và được biểu thị tới số lẻ thứ hai.

Sai lệch giá trị giữa hai lần xác định đồng thời không được vượt quá 0,2%

2.8. Xác định khối lượng 1000 hạt

2.8.1. Dụng cụ và thiết bị:

— Cân kỹ thuật có độ chính xác 0,01 g;

— Khay men trắng;

— Dao gạt hạt;

— Cốc thủy tinh dung tích 250 ml

2.8.2. Tiến hành thử

Từ lượng mẫu đã được làm sạch tạp chất, cân khoảng 200 g mẫu, cho vào khay men, trộn đều, dùng dao gạt phẳng và phân mẫu theo nguyên tắc đường chéo. Từ hai phần đối đỉnh bất kỳ, dùng dao gạt ngẫu nhiên mỗi phần 250 hạt vào cốc thủy tinh khô, sạch và đã được xác định khối lượng.

Cần xác định khối lượng 500 hạt đậu trong cốc chính xác tới 0,01 g.

2.8.3. Tính kết quả

Khối lượng 1000 hạt (theo độ khô tuyệt đối) tính bằng g (X_5) theo công thức:

$$X_5 = \frac{m(100 - W)}{100} \cdot 2$$

Trong đó:

m : khối lượng 500 hạt đậu tính bằng g;

W : hàm lượng nước của mẫu tính bằng phần trăm khối lượng;

2: Hệ số quy đổi cho 1000 hạt

2.9. Xác định độ axit

2.9.1. Dụng cụ thiết bị và hóa chất

- Cân phân tích có độ chính xác 0,0002 g;
- Bình tam giác dung tích 250 ml
- Buret dung tích 25 ml có vạch chia tới 0,1 ml;
- Bình tia dung tích 500 ml;
- Natri hydroxyt (NaOH) 0,1N
- Phenolphthalein 1% trong cồn 60%
- Giấy pH 1 — 12 hoặc pH mét.

2.9.2. Tiến hành thử

Từ mẫu đã chuẩn bị (theo 1.3) cân 5 g chính xác tới 0,0002 g cho mẫu vào bình tam giác khô sạch cho thêm vào bình 50 ml nước cất trung tính lắc đều. Dùng bình tia để dồn các mảnh mẫu bám trên thành bình xuống đáy. Nếu dung dịch mẫu có màu nhạt hoặc không màu, cho thêm vào bình 5 giọt phenolphthalein, nếu dung dịch có màu tối thì dùng giấy pH hoặc pH mét. Dùng buret chuẩn độ bằng NaOH 0,1 N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền sau 30 giây.

2.9.3. Tính kết quả

Độ axit của đậu hạt được biểu thị bằng số ml dung dịch kiềm nồng độ 1N dùng để trung hòa lượng axit tự do có trong 100 g mẫu.

Độ axit của đậu hạt (X_6) được tính theo công thức :

$$X_6 = \frac{V}{M} \times \frac{100}{10} \quad (*)$$

(*) Từ phần này trở đi nếu kết quả muốn tính theo độ khô tuyệt đối thì mẫu số mỗi công thức nhân với $(100 - W)$ w là hàm lượng nước xác định ở mục 2-7. Ví dụ hàm lượng theo tổng số tính bằng % khối lượng theo công thức

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m} \times 100$$

Hàm lượng tro tổng số tính bằng % chất khô theo công thức

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m(100 - w)} \times 100$$

trong đó:

V : lượng NaOH 0,1 N dùng để chuẩn độ tính bằng ml

M : khối lượng mẫu tính bằng g

100 : hệ số tính chuyển cho 100 g mẫu

10 : hệ số tính chuyển nồng độ NaOH từ 0,1N thành 1N

2.10. xác định hàm lượng protein tổng số (phương pháp KENDAN).

2.10.1. Dụng cụ thiết bị và hóa chất:

- Cân phân tích chính xác tới 0,0002g;
- Bộ cất nitơ kiểu pacnat loại trung lượng;
- Bình đốt Kendan dung tích 250 ml;
- Bình tam giác dung tích 250ml.
- Buret dung tích 25 ml có vạch chia tới 0,1 ml;
- Bếp điện;
- Axit sunfuric (H_2SO_4) đậm đặc (96 — 98%), TKPT;
- Axit sunfuric (H_2SO_4) dung dịch 0,1 N;
- Natri hydroxyt (NaOH) dung dịch 25%;
- Natri hydroxyt (NaOH) dung dịch 0,1 N;
- Hỗn hợp chất xúc tác sunfat đồng ($CuSO_4$) và sunfat kali (K_2SO_4) theo tỷ lệ 1: 9 theo khối lượng;
- Phenolphtalein 1% trong cồn 60%;

2.10.2. Tiến hành thử

a) Vô cơ hóa protein

Từ lượng mẫu được chuẩn bị (theo 1.3) cân 0,2 g chính xác tới 0,0002 g; Đổ mẫu vào bình đốt đậm cùng với 1,5 — 2g hỗn hợp chất xúc tác. Dùng bình tia dẫn các mảnh dính trên thành bình xuống đáy. Cho tiếp vào bình 5 ml axit sunfuric đậm đặc và lắc đều. Đặt bình nghiêng 45°, trên bếp miệng bình được đậy bằng một phễu nhỏ. Điều chỉnh khoảng cách giữa bình và bếp trong quá trình đun sao cho ở giai đoạn đầu đốt nhẹ, tới khi các chất trong bình chuyển thành dung dịch màu đen thì đốt mạnh và khi dung dịch chuyển sang màu xanh trong thì quá trình vô cơ hóa kết thúc.

b) Cát nito

Dung dịch protein đã vô cơ hóa sau khi để nguội được chuyển sang bình cầu chứa mẫu của bộ cất pacnat (theo 3.10.1) Dưới ống sinh hàn của bộ cất đặt một hình tam giác dung tích 50 ml chứa 20ml dung dịch axit sunfuric 0,1 N và 3 — 5 giọt chỉ thị sao cho đầu dưới của ống sinh hàn ngập hoàn toàn trong dung dịch axit sunfuric của bình.

Rót từ từ dung dịch natri hydroxyt 25% vào bình cầu chứa mẫu của bộ cất với lượng dư (nhận biết bằng chỉ thị màu phenolphthalein). Dùng hơi nước sôi sục mạnh vào bình chứa mẫu để cất nito khi cần có thể đốt nóng bình cầu để đẩy mạnh quá trình cất, thử những giọt nước chảy ra từ ống sinh hàn bằng giấy pH nếu không thấy phản ứng kiềm thì quá trình cất Nitơ được kết thúc.

c) Chuẩn độ

Lượng axit sunfuric dư trong bình tam giác được chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyt 0,1N với chất chỉ thị màu phenolphthalein. Kết thúc chuẩn độ khi dung dịch trong bình tam giác có màu phớt hồng. Tiến hành xác định nito tổng số của mẫu trắng với lượng thuốc thử như trên.

2.10.3. Tính kết quả

Hàm lượng protein của đậu hạt tính bằng phần trăm khối lượng (X_7) theo công thức

$$X_7 = \frac{(a - b) \cdot 0,0014 \cdot 5,70}{m} \cdot 100$$

trong đó:

a, b — lượng dung dịch natri hydroxyt 0,1 N dùng để chuẩn độ mẫu trắng và mẫu thử tính bằng ml;

m — khối lượng mẫu thử tính bằng g;

0,0014 — Hệ số tính chuyển lượng Nitơ tương ứng 1 ml dung dịch axit sunfuric 0,1N;

5,70 — Hệ số chuyển đổi nitơ ra protein;

Kết quả thử là, trung bình cộng của hai lần thử đồng thời và tính đến số lẻ thứ nhất.



Sai lệch giá trị giữa hai lần thử đồng thời không được vượt quá 0,3%.

2.11. Xác định hàm lượng protein hòa tan (phương pháp Kendan)

2.11.1. Tách protêin hòa tan có trong mẫu bằng dung dịch natriclorua 10%

2.11.2. Dụng cụ, thiết bị và hóa chất:

- Cân phân tích có độ chính xác 0,0002 g;
- Bộ cất paenat tổng số loại trung lượng;
- Bình đốt Kendan (vô cơ hóa) dung tích 250 ml;
- Bình tam giác dung tích 250 ml;
- Máy ly tâm chạy điện;
- Bếp điện;
- Buret 25 ml có vạch chia tới 0,1 ml;
- Pipet;
- Bình định mức dung tích 200 hoặc 250 ml;
- Axit sunfuric đậm đặc (96 — 98%) (TKPT)
- Axit sunfuric dung dịch 0,1N;
- Natri clorua (NaCl) dung dịch 10%;
- Natri hydroxyt (NaOH) dung dịch 0,1N;
- Hỗn hợp chất xúc tác sunfat đồng (CuSO_4) và sunfat kali (K_2SO_4) theo tỷ lệ 1: 9 tính theo khối lượng
- Phenolphthalein 1% trong cồn 60%.

— 2.11.3. Tiến hành thử

a) Tách protein hòa tan

Từ mẫu đã chuẩn bị (theo 1.3), cân 2g chính xác tới 0,0002g tiến hành chiết hết hàm lượng lipid có trong mẫu cho phép dùng lượng mẫu đã xác định hàm lượng lipid để xác định hàm lượng protêin hòa tan. Sau đó cho lượng mẫu đã chiết hết lipid vào các ống nghiệm của máy ly tâm.

Rót vào các ống nghiệm chứa mẫu thử một lượng dung dịch natriclorua 10% sao cho khi máy ly tâm vận hành dung dịch không bị sánh ra ngoài, sau đó lắc 15 phút, ly tâm 20 phút với tốc độ trung bình 3 000 vòng/phút. Chắt lấy phần lỏng sang bình định mức, phần mẫu còn lại tiếp tục cho thêm dung dịch Natriclorua 10% lắc, ly tâm, gạn như thao tác đã mô tả ở phần trên. Quá trình tách

protein hòa tan trong mẫu được ly tâm ít nhất 6 lần. Tất cả phần lỏng của 6 lần ly tâm đều được gạn vào bình định mức, thêm dung dịch natri clorua 10% tới vạch mức, lắc đều và để yên trong 10 phút.

b) Vô cơ hóa protein hòa tan và xác định nitơ hòa tan

Từ dịch chiết có chứa protein hòa tan, dùng pipet hút 20—25ml cho vào bình đốt để vô cơ hóa protein. Quá trình vô cơ hóa và cất nitơ tiến hành theo 2.10.2.

2.11.4. Tính kết quả

Hàm lượng protein hòa tan tính bằng phần trăm khối lượng (X_s) theo công thức:

$$X_s = \frac{(a - b) \cdot 0,0014 \cdot V_2 \cdot 5,7}{V_1 \cdot m} \cdot 100$$

trong đó:

a, b: lượng dung dịch NaOH 0,1N dùng để chuẩn độ mẫu trắng và chuẩn độ mẫu thử tính bằng ml;

V_1 : lượng dung dịch nước chiết protein hòa tan dùng để vô cơ hóa tính bằng ml;

V_2 : thể tích định mức dung dịch natri clorua 10% chiết protein hòa tan cho mẫu, tính bằng ml;

m: khối lượng mẫu tính bằng g;

0,014: Hệ số tính chuyển lượng nitơ tương ứng 1 ml dung dịch axit sunfuric 0,1N

5,7: Hệ số chuyển đổi nitơ ra protein

Kết quả thử là trung bình cộng của 2 lần thử đồng thời và tính đến số lẻ thứ nhất.

Sai lệch kết quả hai lần thử đồng thời không vượt quá 0,3%.

2.12. Xác định hàm lượng lipid:

2.12.1. Phương pháp dựa trên nguyên tắc chiết lipid ra khỏi mẫu bằng dung môi hữu cơ ete etylic.

2.12.2. Dụng cụ, thiết bị và hóa chất:

- Cân phân tích có độ chính xác 0,0002;
- Bộ chiết lipid Soxhlet;
- Tủ sấy điện;
- Máy chưng cất thủy;

- Giấy lọc;
- Bông đã khử lipit;
- Ete etylic, (TKPT)
- Bình hút ẩm;

2.12.3. Tiến hành thử

Từ lượng mẫu đã được chuẩn bị (theo 1.3) cân 2 hoặc 3g chính xác tới 0,0002g vào ống giấy lọc hình trụ bịt kín một đầu và có kích thước phù hợp với bộ Soclet. Đầu trên ống giấy lọc chứa mẫu đặt một ít bông đã khử lipit. Chiều cao của ống giấy lọc chứa mẫu phải thấp hơn ống hồi lưu ête của bộ cất Soclet.

Đặt ống giấy chứa mẫu vào phần giữa của bộ Soclet, lắp bình cầu khô, sạch và đã được xác định khối lượng ở phía dưới, đổ ete etylic ngập ống giấy chứa mẫu và cao hơn ống hồi lưu. Bộ Soclet được lắp trên máy chưng cách thủy (cho phép được thay thế máy chưng cách thủy bằng một bóng điện 60w. Điều chỉnh nhiệt độ máy cách thủy sao cho có từ 6 đến 8 lần ête luân chuyển qua mẫu trong 1 giờ.

Quá trình chiết lipit kết thúc khi giọt ete etylic từ ống hồi lưu chảy xuống không làm loang giấy lọc khi đã bay hết ete. Cất thu hồi ê-te etylic trong bình cầu. Đặt bình cầu trong tủ sấy đã duy trì ở nhiệt độ 100 - 105°C, sấy đến khối lượng không đổi.

Đề nguội bình 30 phút trong bình hút ẩm, cân bình cầu đề xác định hàm lượng lipit có trong mẫu.

2.12.4. Tính kết quả

Hàm lượng lipit có trong mẫu tính bằng phần trăm khối lượng (X_0) theo công thức:

$$X_0 = \frac{m_1 - m_0}{m} \cdot 100$$

trong đó:

m_1 : khối lượng của bình cầu chứa hàm lượng lipit của mẫu, tính bằng g;

m_0 : khối lượng bình cầu tính bằng g;

m : khối lượng mẫu tính bằng g

Kết quả là trung bình cộng của hai lần xác định đồng thời và tính đến số lẻ thứ nhất.

Sai lệch giá trị của hai lần xác định đồng thời không được vượt quá 0,5%.

2.13. Xác định hàm lượng gluxit;

2.13.1. Dụng cụ thiết bị và hóa chất:

- Cân phân tích có độ chính xác 0,0002 g;
- Máy chưng cách thủy;
- Máy hút chân không hoặc bộ hút chân không bằng vòi nước;
- Bình định mức dung tích 200 hoặc 250 ml;
- Bình cầu dung tích 200 hoặc 250 ml;
- Ống sinh hàn dài 30 — 40 cm;
- Phễu xóp số 4;
- Axit clohydric (HCl), $d = 1,19$
- Natrihydroxyt (NaOH), dung dịch 20%;
- Chì axêtat dung dịch 30%;
- Natri sunfat (Na_2SO_4), dung dịch bão hòa.
- Dung dịch pheling A: 40 g sunfat đồng ngâm 5 phần tử nước hòa trong 1 lit nước cất ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$);
- Dung dịch pheling B: 200 g kali natri tatrát, 15 g natri hydroxyt tinh thể hòa trong 1 lit nước cất;
- Dung dịch sắt sunfat: 50 g sắt sunfat ngâm 9 phần tử nước ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$);

200 g axit sunfuaric đậm đặc (96 — 98%), tất cả hòa trong nước cất để đủ một lit dung dịch

- Kali pemanganat (KMnO_4) dung dịch 0,1 N

2.13.2. Tiến hành thử

Từ mẫu đã được chuẩn bị (theo 1.3) cân 2 g chính xác tới 0,0002 g cho vào bình cầu dung tích 250 ml. Thêm vào bình 50 ml nước cất 5 ml axit clohydric đậm đặc ($d = 1,19$) phía trên bình cầu lắp ống sinh hàn thẳng đứng. Bình cầu được ngâm chìm trong nước của máy cách thủy và được đun sôi 3 giờ để thủy phân gluxit của mẫu. Để nguội và trung hòa lượng axit dư bằng natrihydroxit dung dịch 20%.

Chuyển toàn bộ lượng mẫu đã được thủy phân sang bình định mức dung tích 250 ml. Thêm vào bình định mức từ 5 đến 10 ml dung dịch chì axêtat sao cho đủ khả năng kết tủa hoàn toàn dung dịch mẫu đã được thủy phân. Lắc thật đều và để yên cho

dung dịch lắng trong hoàn toàn. Cho dung dịch bão hòa natri sunfat vào bình để khử lượng chì axetat dư (kiểm tra bằng cách cho chảy theo thành bình 1 giọt natri sunfat bão hòa mà không làm đục lớp trên của dung dịch mẫu là được). Thêm nước cất đến vạch mức, lắc đều và để lắng trong. Lọc dung dịch mẫu sang một bình tam giác khô sạch, đậy kín để tiến hành phân tích. Dùng pipet hút 20 ml dung dịch mẫu cho vào bình tam giác khô sạch cho thêm vào bình 20 ml dung dịch pheling A và 20 ml dung dịch pheling B, lắc đều và đun trên bếp điện. Đun sôi dung dịch 3 phút, nếu thấy dung dịch mất màu xanh đồng sunfat thì làm lại với lượng dung dịch mẫu nhỏ hơn sao cho dư thừa dung dịch pheling A và B để kết tủa oxyt đồng hóa trị 1. Để nghiêng bình cho kết tủa lắng hoàn toàn, gạn nhẹ nhàng lọc kết tủa qua phễu xốp số 4 sao cho kết tủa oxyt đồng theo lên phễu càng ít càng tốt. Rửa kết tủa còn lại trong bình và trên phễu bằng nước cất đun sôi cho hết kiềm. Hòa tan kết tủa oxyt đồng hóa trị 1 trong bình và trên phễu bằng dung dịch sắt sunfat.

Chuẩn độ dung dịch bằng kali pemanganat 0,1 N đến khi xuất hiện màu hồng bền sau 30 giây.

2.13.3. Tính kết quả:

Hàm lượng glucit tính bằng phần trăm khối lượng (X_{10}) theo công thức:

$$X_{10} = \frac{a \cdot V_1 \cdot 0,9 \times 100}{V_0 \cdot m \cdot 1000}$$

trong đó:

a: Số miligam đường khử tra theo bảng dựa trên số ml dung dịch kali permanganat 0,1 N dùng chuẩn độ;

v_1 : Thể tích dung dịch đã thủy phân glucit tính bằng ml

v_0 : Thể tích định mức dung dịch mẫu tính theo khối lượng mẫu;

m: khối lượng mẫu tính bằng g;

0,9: Hệ số tính chuyển mono saccarit thành glucit;

1000: Hệ số chuyển đổi đơn vị mg ra g

Kết quả thử là trung bình cộng hai lần xác định đồng thời và tính tới số lẻ thứ nhất.

Sai lệch giá trị giữa hai lần xác định đồng thời không được vượt quá 0,5%.

2.14. Xác định hàm lượng tro tổng số

2.14.1 Dụng cụ và thiết bị

- Cân phân tích có độ chính xác tới 0,0002 g
- Lò nung điện có bộ phận điều chỉnh nhiệt độ
- Bình hút ẩm
- Chén nung bằng sứ có nắp
- Kẹp gấp chén nung

2.14.2. Tiến hành thử

Tủ lượng mẫu đã chuẩn bị (theo 1.3) cân 5g chính xác tới 0,0002g vào chén nung bằng sứ có nắp đã nung đến khối lượng không đổi và được xác định khối lượng. Đặt nắp chén nung và đốt sơ bộ trên bếp điện. Sau khi mẫu đã cháy thành than, chuyển chén nung chứa mẫu sang lò nung ở nhiệt độ 600 — 700°C.

Mẫu được tro hóa tới màu trắng xám hoặc vàng nhẹ, lấy kẹp gấp chén nung đặt trong bình hút ẩm khoảng 40 phút, cân xác định khối lượng chén nung chứa tro của mẫu chính xác tới 0,0002g.

2.14.3. Tính kết quả

Hàm lượng tro tổng số tính bằng phần trăm khối lượng (X_{11}) theo công thức:

$$X_{11} = \frac{m_1 - m_0}{m} \cdot 100,$$

trong đó:

- m_1 : Khối lượng chén nung chứa tro của mẫu tính bằng g;
- m_0 : Khối lượng chén nung tính bằng g;
- m : Khối lượng mẫu tính bằng g.

Kết quả thử là trung bình cộng hai lần xác định đồng thời và tính tới số lẻ thứ hai.

Sai lệch giá trị giữa hai lần thử đồng thời không vượt quá 0,05%.