

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	02/01/2018

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.061 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 02/01/2018 Trang: 2/6
---	----------------------------	---

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng

Phương này dùng để xác định đường khử, đường tổng, gluxit tổng số/ carbohydrate trong các nền mẫu theo bảng sau:

Chỉ tiêu phân tích	Nền mẫu	LOD	LOQ
Đường khử	Thực phẩm	0.3 %	1.0 %
Đường tổng	Thực phẩm	0.3 %	1.0 %
Glucid/ Carbohydrate	Thực phẩm	0.3 %	1.0 %

II. Tài liệu tham khảo

- TCVN 4594_88
- EC152-200

III. Nguyên tắc

- Mẫu xác định đường khử và đường tổng được chiết với nước nóng, đối với đường tổng sau khi chiết xong thì dùng axit clohydric thủy phân, sau đó xác định theo phương pháp Luff-Schoorl. Còn đường khử thì không qua bước thủy phân.
- Mẫu xác định gluxit hay carbohydrat thì thủy phân trong môi trường axit clohydric, đun sôi trong 2 giờ, sau đó xác định bằng phương pháp Luff-Schoorl.

IV. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi làm việc với axit HCl, Axit H₂SO₄, NaOH.

Khi pha dung dịch Luff-Schoorl phải pha trong tủ hút và đeo găng tay cẩn thận, tuân thủ đúng theo hướng dẫn pha.

Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

B. PHÂN TÍCH

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích

1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 10mg, 1mg, 0.1mg

- b. Ống hoàn lưu
- c. Bếp đun bình cầu
- d. Bếp gia nhiệt có điều chỉnh được nhiệt độ

2. Dụng cụ phân tích



- a. Erlen 150mL, erlen 250mL
- b. Becher 150mL, 500mL
- c. Bình cầu đáy bằng 250mL
- d. Bình định mức 100mL, 1L
- e. Buret 25mL
- f. Pipet 2mL, 5mL, 10mL, 25mL

II. Hóa chất

1. Hóa chất

- a. Nước cất 1 lần
- b. Axit HCl đậm đặc
- c. NaOH, loại TKPT
- d. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- e. KI, TKPT
- f. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, TKPT
- g. Axit citric monohydrate
- h. H_2SO_4
- i. $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- j. CH_3COOH
- k. $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- l. Na_2CO_3
- m. Tinh bột
- n. Saccaro, TKPT
- o. Gluco, TKPT

2. Dung dịch thử

-  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1N: Cân 24.818g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hòa tan vào 1L nước cất.
-  Dung dịch Luff Schoorl: Cân 25g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hòa tan trong 100mL nước. Cân 50g acid citric monohydrate hòa tan trong 50mL nước. Cân 143.8g Na_2CO_3 trong 300mL nước ấm, để

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.061 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 02/01/2018 Trang: 4/6
---	---------------------	---

về nhiệt độ phòng. Đổ rất từ từ acid citric vào dd Na_2CO_3 , sau đó thêm dung dịch CuSO_4 vào và định mức đến 1L.

- 🌸 H_2SO_4 3M: Rót từ từ 167mL H_2SO_4 đđ vào bình định mức 1L có chứa sẵn 600mL nước, để nguội, định mức đến vạch bằng nước cất.
- 🌸 KI 30%: hòa tan 30g KI trong 100mL nước
- 🌸 Carrez I: hòa tan 21.9g $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và 3ml CH_3COOH trong 100mL nước.
- 🌸 Carrez II: Hòa tan 10.6g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ trong 100mL nước.

III. KIỂM SOÁT QA/QC

- Thực hiện ít nhất 1 mẫu duplicate cho 1 lô ≥ 5 mẫu
- Thực hiện phân tích chuẩn Gluco khi phân tích đường khử, chuẩn Saccaro khi phân tích đường tổng và phân tích tinh bột khi phân tích glucxit hay carbohydrate.

IV. XỬ LÝ MẪU

1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu được đồng nhất theo HD.KT.022

2. Phương pháp tiến hành

2.1 Xác định đường tổng và đường khử

Đối với mẫu không có tinh bột: Cân từ 5-10g mẫu vào erlen 250mL, thêm 100mL nước nóng, rồi đun trên bếp cách thủy ở 80°C trong 15 phút, lấy ra để nguội thêm 2mL carrez I và 2mL carrez II, lắc đều, định mức đến 200mL bằng nước cất và lọc qua giấy lọc. Nếu xác định đường khử thì lấy dung dịch này đem phản ứng với tác nhân Luff-Schorl. Còn khi xác định đường tổng lấy 100mL dung dịch sau lọc cho vào erlen 250mL, thêm 5mL HCl đậm đặc và đun cách thủy sôi trong 15 phút, lấy ra để nguội trung hòa bằng dung dịch natrihydroxit 30%, sau đó định mức đến 200mL bằng nước cất. Nếu sau giai đoạn này bị đục thì lọc qua giấy lọc bằng vàng, đem đi phản ứng với tác nhân Luff-Schorl.

Đối với mẫu có tinh bột: Cân 5-10g mẫu cho bình định mức 200mL. Thêm vào 150mL Ethanol 40%, lắc trong 1h. Sau đó thêm 2mL carrez I và mL carrez II lắc 1 phút, định mức đến vạch bằng Ethanol 40%. Lọc lấy 100mL đem cô quay đến còn một nửa lấy ra định mức lên 100mL bằng nước cất, và lọc lại nếu cần. Dung dịch này dùng để xác định đường tổng và đường khử. Cách thức tiến hành giống như đối với mẫu không có tinh bột.

Phản ứng với tác nhân Luff-Schorl như sau:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.061 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 02/01/2018 Trang: 5/6
---	---------------------	---

Lấy 25mL mẫu hoặc lấy một thể tích ít hơn của mẫu và thêm nước sao cho tổng cộng mẫu và nước là 25mL cho vào bình cầu 250mL, thêm vào 25mL tác nhân Luff-Schorl, lắc đều và đặt lên bếp đun hoàn lưu, chỉnh nhiệt độ sao cho sau 2 phút là dung dịch trong bình cầu sôi, sau đó đun sôi thêm 10 phút nữa lấy ra để nguội, thêm vào 10mL KI 30% và lập tức thêm từ từ 25mL H₂SO₄ 3M, sau đó chuẩn độ bằng dung dịch Na₂S₂O₃ 0.1M đến màu vàng rơm, thêm chỉ thị tinh bột và chuẩn độ tiếp đến kết thúc.

● Xác định hàm lượng Glucid (carbohydrate), tinh bột

Hàm lượng tinh bột trong mẫu là hiệu số giữa glucit tổng số và đường tổng số xác định theo phương pháp Luff Schorl, sau đó nhân với hệ số 0.9

Xác định glucit tổng số: cân 1- 3g mẫu đã được đồng nhất cho vào erlen 250ml, thêm vào 100ml nước, sau đó cho vào 10ml HCl đậm đặc, đun trên bếp cách thủy 2h, để nguội, trung hòa bằng NaOH 30%, sau đó loại protit bằng 2mL carrez I và 2mL carrez II, lắc đều, định mức đến 200mL bằng nước cất, lắc và lọc. Sau đó lấy 25mL dd này hoặc 25mL dung dịch sau khi pha loãng rồi đem phản ứng với tác nhân Luff-Schorl như ở phần trên.

● Xác định lại nồng độ Na₂S₂O₃

Rút 10ml dd K₂Cr₂O₇ 0.1N cho vào erlen 250mL, thêm 1g KI, rồi thêm 10mL HCl 2N, đậy kín để trong bóng tối 5 phút, lấy ra chuẩn độ bằng dd Na₂S₂O₃ đến màu vàng rơm thêm 1mL dd tinh bột 1% và tiếp tục chuẩn bị cho đến khi hết màu.

C. TÍNH KẾT QUẢ

- Từ số ml Na₂S₂O₃ 0.1N đã dùng tra bảng được số mg glucosơ tương ứng.
- Hàm lượng đường tổng số (X₁) tính bằng % theo công thức

$$X_1(\%) = \frac{a * V * V_2 * 100}{m * V_1 * V_3 * 1000}$$

a: lượng glucozo tương ứng, (mg)

V: thể tích bình định mức sau khi khử protit, mL

V₁: thể tích mẫu lấy để thủy phân, mL

V₂: thể tích bình định mức sau khi đã thủy phân, mL

V₃: thể tích mẫu lấy để phản ứng, mL

m: lượng cân mẫu, g

1000: hệ số qui đổi từ mg sang g

- Hàm lượng glucit (carbohydrate) tổng số (X₂) tính bằng % theo công thức

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.061 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 02/01/2018 Trang: 6/6
---	---------------------	---

$$X_2 (\%) = \frac{a * V * 100}{m * V_1 * 1000}$$

a: lượng glucozo tương ứng, (mg)

V: thể tích bình định mức sau khi khử protit, mL

V₁: thể tích mẫu lấy để phản ứng, mL

m: lượng cân mẫu, g

Hàm lượng tinh bột (X) tính bằng % theo công thức:

$$X = (X_2 - X_1) * 0.9$$

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá 10%.
- Trong một lô mẫu phải làm QC, đối với đường khử thì QC là glucozo, đối với đường tổng QC là saccaro, còn đối với gluxit QC là gluxit. Hiệu suất thu hồi của mẫu QC dao động từ 95-105%

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ

Kết quả phân tích được báo cáo theo BM 15.04b và BM.15.06