

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.085 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 1/5
--	--	---

**ĐỊNH LƯỢNG NITƠ TỔNG VÀ PROTEIN THÔ TRONG  
THỨC ĂN CHĂN NUÔI BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL  
(DETERMINATION OF TOTAL NITROGEN AND  
PROTEIN IN ANIMAL FEED BY KJELDAHL METHOD)**

<b>Nhân viên biên soạn</b>	<b>Nhân viên xem xét</b>	<b>Nhân viên phê duyệt</b>
Phạm Thị Kim Cúc	Trịnh Thị Minh Nguyệt	Trịnh Thị Minh Nguyệt

**THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU**

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	15/10/2017

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.085 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 2/5</p>
--	--	---

## A. GIỚI THIỆU

### 1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng nitơ trong thức ăn chăn nuôi bằng phương pháp Kjeldahl và tính hàm lượng protein thô.

Phương pháp này không xác định được các dạng nitơ bị oxi hóa hoặc các hợp chất nitơ dị vòng.

Phương pháp này không phân biệt được giữa nitơ protein và nitơ phi protein. Nếu cần phải xác định hàm lượng nitơ phi protein thì phải áp dụng phương pháp thích hợp khác.

### 2. Tài liệu tham khảo

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: Referent TCVN 4328-1:2007

### 3. Nguyên tắc

Chất hữu cơ được phân hủy bằng axit sulfuric với sự có mặt của chất xúc tác. Sản phẩm phản ứng được kiềm hóa, sau đó được chưng cất và chuẩn độ lượng amoniac giải phóng. Tính hàm lượng nitơ và nhân kết quả với hệ số qui ước để thu được hàm lượng protein thô.

## B.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 cần thiết.

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

## C. THIẾT BỊ, DỤNG CỤ

### 1. Thiết bị

- o Bộ phá mẫu kjeldahl (ống kjeldahl 250ml và bếp gia nhiệt tới 420°C).
- o Máy chưng cất kjeldahl.
- o Buret 25ml.
- o Erlen 250ml.
- o Pipet vạch, bầu và micropipet các loại
- o Dụng cụ thủy tinh các loại

## D. HÓA CHẤT VÀ DUNG DỊCH THỬ

### 1. Hóa chất

- o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đđ.
- o K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.085 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 3/5</p>
--	--	---

- o  $\text{CuSO}_4$
- o NaOH.
- o Methyl đỏ, methyl xanh
- o Nước cất dùng cho phân tích
- o Acetanilide.

## 2. Chuẩn bị hoá chất:

- Hỗn hợp  $\text{K}_2\text{SO}_4$ :  $\text{CuSO}_4 = 9: 1$
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1N: hút 2.7ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đđ vào bình định mức 1L và định mức tới vạch bằng nước cất.
- Hỗn hợp chỉ thị: 0.2g methyl đỏ và 0.1g xanh methylene trong 100ml ethanol 96%
- NaOH 0.1N: Cân 4g NaOH hoà tan trong 1L nước cất.

## E. KIỂM SOÁT QA/AC

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

- Mẫu Blank hóa chất
- Mẫu kiểm tra độ kín của hệ thống
- Mẫu Lặp
- Mẫu QC bằng acetanilide.

## F. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH

### 1. Chuẩn bị mẫu

- Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6952:2001

### 2. Xử lý mẫu

- Cân một lượng mẫu thử, tùy thuộc vào hàm lượng nitơ sao cho phần mẫu thử chứa từ 0,005 g đến 0,2 g nitơ và tốt nhất là lớn hơn 0,02 g nitơ, chính xác đến 1 mg.
- Khối lượng phần mẫu thử từ mẫu khô đồng nhất nên lấy trong khoảng từ 0,5 g đến 2,0 g. Khối lượng phần mẫu thử ướt và/hoặc không đồng nhất thì trong khoảng từ 2,5 g đến 5,0 g.

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.085 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 4/5</p>
--	--	---

- Cho mẫu vào ống Kjeldahl, thêm 3g hỗn hợp xúc tác  $K_2SO_4$ :  $CuSO_4$ =9:1.
- Thêm tiếp 20ml acid  $H_2SO_{4dd}$  theo thành ống Kjeldahl để tránh hiện tượng sôi trào.
- Lắc nhẹ cho đều, và nâng nhiệt độ của bếp lên  $420^{\circ}C$  , đun cho đến khi dung dịch trong suốt , tắt bếp, để nguội, nếu xuất hiện cặn rắn thì thêm một ít nước và trộn đều bằng cách lắc.

### 3. Chưng cất amoniac

- Cho cẩn thận từ từ 50ml nước cất để hòa tan hoàn toàn sulfat.
- Lắp ống kjeldahl vào hệ thống chưng cất.
- Dùng pipet lấy 25ml acid  $H_2SO_4$  0.1N hoặc acid  $H_2SO_4$  có nồng độ phù hợp cho vào bình hứng của thiết bị chưng cất, thêm từ từ khoảng 50ml nước và vài giọt của chỉ thị hỗn hợp.
- Nhúng đầu ra của ống sinh hàn trong bình hứng đã chứa dung dịch acid sâu ít nhất là 1cm.
- Sau đó cho từ từ 60ml dung dịch NaOH vào ống Kjeldahl. Bắt đầu quá trình cất amoniac, kiểm tra độ pH của dịch cất ở đầu ống ngưng, nếu phản ứng trung tính thì kết thúc quá trình cất, thường là lấy khoảng 150ml dịch cất là được.

Lưu ý: Lấy bình hứng ra trước khi tắt hệ thống cất để tránh hiện tượng sục ngược trở lại của dịch cất.

### 4. Chuẩn độ

Chuẩn độ lại lượng acid  $H_2SO_4$  dư bằng dung dịch NaOH 0.1N hoặc NaOH có nồng độ phù hợp, tại điểm tương đương có sự thay đổi màu từ tím sang xanh lá cây.

### 5. Mẫu trắng:

Làm song song một mẫu trắng giống như IV.2 đến IV.4 nhưng không có mẫu thử

## G. YÊU CẦU VỀ ĐỘ TIN CẬY CỦA PHÉP PHÂN TÍCH

- Hiệu suất thu hồi khi sử dụng acetanilide làm chất chuẩn thì hiệu suất phải đạt trên 98%
- Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả phân tích của hai phép thử độc lập khi sử dụng cùng phương pháp trên vật liệu giống hệt nhau trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng một thiết bị, thực hiện trong khoảng thời gian ngắn, không quá 5% các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại (r) được tính theo công thức sau:

$$r = 0.3\% + 0.008 \cdot w_p$$

trong đó: r: giới hạn lặp lại, %

$w_p$ : là giá trị trung bình của hai kết quả thử đơn lẻ xác định lượng protein thô, %

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.085 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 5/5</p>
--	--	---

- Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả phân tích của hai phép thử độc lập khi sử dụng cùng phương pháp trên vật liệu giống hệt nhau trong cùng một phòng thử nghiệm, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không quá 5% các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại (r) được tính theo công thức sau:

$$R = 1.3\% + 0.027 \cdot w_p$$

trong đó: R: giới hạn tái lập

$w_p$ : là giá trị trung bình của hai kết quả thử độc lập xác định lượng protein thô, %

## H. TÍNH KẾT QUẢ

- Hàm lượng nitơ:

$$\text{Nitơ (\%)} = \frac{(A - B) \times C \times M \times 100}{m \times 1000}$$

A: mL NaOH chuẩn độ mẫu trắng.

B: mL NaOH chuẩn độ mẫu.

C: nồng độ chính xác của dung dịch NaOH dùng để chuẩn độ.

M: Khối lượng phân tử gam của nitơ, ( $M = 14 \text{ g/mol}$ ), tính bằng gam trên mol.

- Hàm lượng protein:  $\text{Protein (\%)} = N \times 6.25$

## I. BÁO CÁO KẾT QUẢ

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong phiếu phân tích, bao gồm:

- Mã số mẫu, ngày phân tích, thiết bị phân tích...
- Khối lượng của mẫu thử
- Kết quả của mẫu trắng, mẫu thử, mẫu thêm chuẩn
- Giới hạn phát hiện của phương pháp.
- Những ghi nhận hay thay đổi khác (nếu có)