

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 10791:2015**

Xuất bản lần 1

**MALT – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ TỔNG SỐ  
VÀ TÍNH HÀM LƯỢNG PROTEIN THÔ –  
PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL**

*Malt – Determination of the nitrogen content and  
calculation of the crude protein content – Kjeldahl method*

HÀ NỘI – 2015



## Lời nói đầu

TCVN 10791:2015 được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 950.09 *Protein in laboratory malt. Kjeldahl method* và tiêu chuẩn của Hiệp hội Đồ uống châu Âu EBC Method 4.3.1 (2004) *Total nitrogen of malt. Kjeldahl method*;

TCVN 10791:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F9 *Đồ uống* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.



## Malt – Xác định hàm lượng nitơ tổng số và tính hàm lượng protein thô – Phương pháp Kjeldahl

*Malt – Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content – Kjeldahl method*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp Kjeldahl để xác định hàm lượng nitơ tổng số và tính hàm lượng protein thô của malt.

### 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

TCVN 10787:2015, *Malt – Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử*

TCVN 10788:2015, *Malt – Xác định độ ẩm – Phương pháp khối lượng*

### 3 Nguyên tắc

Phân hủy các hợp chất nitơ có trong mẫu thử bằng axit sulfuric đặc nóng, có mặt chất xúc tác, để thu được amoni sulfat. Sản phẩm phân hủy được kiểm hóa bằng dung dịch natri hydroxit và giải phóng amoniac bằng cách chưng cất vào lượng dư dung dịch axit boric. Chuẩn độ amoniac bằng dung dịch chuẩn axit.

#### **4 Thuốc thử và vật liệu thử**

Sử dụng thuốc thử tinh khiết phân tích và nước đạt loại 3 theo TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987), trừ khi có quy định khác.

**4.1 Axit sulfuric, 98 %** (khối lượng/thể tích).

**4.2 Dung dịch natri hydroxit**

Hòa tan 450 g natri hydroxit dạng viên hoặc dạng vảy, trong 1 lít nước.

Dung dịch phải có tỉ trọng tương đối bằng hoặc lớn hơn 1,35.

**4.3 Hỗn hợp chất xúc tác**, gồm kali sulfat dạng bột, titan dioxit và đồng sulfat ngậm năm phân tử nước theo tỉ lệ tương ứng 1000 : 30 : 30 (phần khối lượng).

Có thể sử dụng viên xúc tác bán sẵn có thành phần tương tự.

**4.4 Vật liệu chống sôi trào**, cacborundum dạng bột thô, kẽm dạng viên hoặc bi thủy tinh.

**4.5 Dung dịch axit boric, 20 g/lít.**

**4.6 Dung dịch axit chuẩn độ**, axit clohydric 0,1 M hoặc axit sulfuric 0,05 M.

**4.7 Chất chỉ thị bromocresol xanh**

Trộn dung dịch bromocresol xanh (3,3'-5,5'-tetrabromomcresol sulfonic phthalein) nồng độ 1 g/lít trong etanol 95 % (thể tích) với dung dịch metyl đỏ (axit p-dimethylaminoazobenzeneo- cacboxylic) nồng độ 1 g/lít trong etanol 95 % (thể tích), với tỉ lệ thể tích 10 : 4.

Chất chỉ thị này có màu hồng trong môi trường axit, màu xám tại điểm kết thúc chuẩn độ và màu xanh lam trong môi trường kiềm.

**4.8 Acetanilide**, đã được sấy trước trong áp suất giảm ở 80 °C.

**4.9 Sacarose**, tinh khiết.

#### **5 Thiết bị, dụng cụ**

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm và như sau:

**5.1 Bộ phân hủy mẫu Kjeldahl.**

**5.2 Bình Kjeldahl**, dung tích 500 ml.

**5.3 Bộ chưng cất.**

**5.4 Bình nón** (bình hứng), dung tích 250 ml.

**5.5 Ống đong**, dung tích 25 ml, 100 ml và 250 ml.

**5.6 Pipet**, chia vạch đến 1 ml

**5.7 Buret**, loại 25 ml hoặc 50 ml.

**5.8 Máy nghiền đĩa**, có khoảng cách giữa hai đĩa nghiền là 0,2 mm, có thể nghiền mịn vật liệu nhưng không sinh nhiệt (ví dụ: máy nghiền đĩa Bühler Universal Laboratory Disc Mill, kiểu DLFU của hãng Bühler GmbH, Đức).

**5.9 Cân phân tích**, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

## 6 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện. Mẫu không bị hư hỏng hoặc không bị thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 10787:2015.

## 7 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử (nghiền) theo TCVN 10787:2015.

Cân khoảng 20 g mẫu thử, chính xác đến 0,01 g, nghiền mịn bằng máy nghiền (5.8). Chuyển mẫu đã nghiền vào lọ, đậy nắp và trộn kĩ.

## 8 Cách tiến hành

### 8.1 Phân hủy mẫu

Cân từ 1,0 đến 1,5 g phần mẫu thử đã chuẩn bị, chính xác đến 1 mg, chuyển định lượng vào bình Kjeldahl khô (5.2). Thêm khoảng 10 g hỗn hợp xúc tác dạng bột hoặc dạng viên (4.3), trộn đều.

Thêm 20 ml axit sulfuric 98 % (4.1), xoay nhẹ bình để trộn và làm ấm lượng chứa trong bình. Tiến hành phân hủy mẫu ở nhiệt độ thấp cho đến khi ngừng tạo bọt. Đun sôi hỗn hợp đến khi xuất hiện màu nâu, đun tiếp trong 30 min. Không để nguồn nhiệt tiếp xúc trực tiếp với bình ở phía trên mức chất lỏng và phải quan sát thấy hơi nước hồi lưu tại vùng thấp của cổ bình Kjeldahl.

Để nguội dịch phân hủy. Nếu lượng chứa trong bình bị hóa rắn chứng tỏ lượng axit dư đã bị thất thoát trong quá trình phân hủy và amoni sulfat có thể đã hóa hơi.

### 8.2 Chứng cất

Cẩn thận pha loãng dịch phân hủy với 250 ml nước cất, thêm vật liệu chống sôi trào (4.4) và thêm từ từ

khoảng 70 ml dung dịch natri hydroxit (4.2) để tạo thành hai lớp rõ rệt. Lắp bình với ống bảo vệ và nối với bộ sinh hàn, chú ý không làm xáo trộn các lớp chất lỏng. Đầu ra của bộ sinh hàn phải nhúng ngập trong dung dịch axit boric.

Xoay mạnh bình để trộn nhanh lượng chứa trong bình và gia nhiệt đủ. Bật sẵn thiết bị gia nhiệt trước khi nối bình, để giảm thiểu nguy hiểm do chất lỏng chảy ngược trở lại qua sinh hàn. Ngay sau khi trộn, cần tháo bình chứa axit boric để làm khô đầu ra của bình sinh hàn và để cân bằng áp suất trong bình chưng cất.

Chưng cất amoniac vào lượng dư axit boric nồng độ 20 g/lit (khoảng 25 ml), có chứa 0,5 ml chất chỉ thị (4.7). Lấy khoảng 180 ml dịch chưng cất và chuẩn độ amoniac bằng dung dịch axit chuẩn độ (4.6). Điểm kết thúc chuẩn độ đạt được khi dung dịch chuyển sang màu xám.

### 8.3 Mẫu trắng

Thực hiện mẫu trắng thuốc thử, dùng 1,000 g sacarose (4.9) thay cho phần mẫu thử.

## 9 Tính và biểu thị kết quả

### 9.1 Hàm lượng nitơ tổng số

Hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử,  $X_{N1}$ , biểu thị theo phần trăm khối lượng, được tính theo Công thức (1):

$$X_{N1} = \frac{V \times 0,0014}{m} \times 100 = \frac{V \times 0,14}{m} \quad (1)$$

Hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử,  $X_{N2}$ , biểu thị theo phần trăm khối lượng chất khô, được tính theo Công thức (2):

$$X_{N2} = \frac{V \times 0,0014}{m} \times \frac{100}{100 - w} \times 100 = \frac{V \times 14}{m \times (100 - w)} \quad (2)$$

Trong đó:

$V$  là thể tích dung dịch axit chuẩn độ cần để trung hòa amoniac sau khi trừ giá trị tương ứng của mẫu trắng, tính bằng mililit (ml);

0,0014 là số gam nitơ tương ứng với 1 ml dung dịch axit chuẩn độ (axit clohydric 0,1 M hoặc axit sulfuric 0,05 M);

$m$  là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g);



$w$  là độ ẩm của phần mẫu thử, tính bằng phần trăm khối lượng, xác định được theo TCVN 10788:2015.

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

## 9.2 Hàm lượng protein tổng số

Hàm lượng protein tổng số của mẫu thử,  $X_{P1}$ , biểu thị theo phần trăm khối lượng, được tính theo Công thức (3):

$$X_{P1} = X_{N1} \times 6,25 \quad (3)$$

Hàm lượng protein tổng số của mẫu thử,  $X_{P2}$ , biểu thị theo phần trăm khối lượng chất khô, được tính theo Công thức (4):

$$X_{P2} = X_{N2} \times 6,25 \quad (4)$$

Trong đó:

$X_{N1}$  là hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử, tính bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức (1);

$X_{N2}$  là hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử, tính bằng phần trăm khối lượng chất khô, theo Công thức (2);

6,25 là hệ số chuyển đổi từ hàm lượng nitơ tổng số sang hàm lượng protein.

## 10 Độ chụm

Các giá trị độ chụm dưới đây được xác định từ dữ liệu thử nghiệm liên phòng do Ủy ban phân tích của EBC thực hiện năm 1990. Các phòng thử nghiệm tham gia đã phân tích các mẫu malt với sáu mức hàm lượng nitơ tổng số từ 1,56 % đến 1,87 % (khối lượng). Các giá trị độ chụm này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với dải nồng độ và chất nền đã nêu.

### 10.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ về hàm lượng nitơ tổng số, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong cùng một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,05 % (khối lượng).

### 10.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ về hàm lượng nitơ tổng số, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau,

## **TCVN 10791:2015**

do những người khác nhau thực hiện, sử dụng thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,13 % (khối lượng).

### **11 Báo cáo thử nghiệm**

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu thỏa mãn yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] EBC 3.3.1 (2004) *Total nitrogen of barley. Kjeldahl Method*
-