

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 5266:1990

**SẢN PHẨM ONG – PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH
HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG KHỬ TỰ DO**

Bee products – Determination of reduction sugar content

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 5266:1990 do Công ty Ong Trung ương biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng trình duyệt, Ủy ban Khoa học Nhà nước (nay là Bộ Khoa học và Công nghệ) ban hành;

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật

Sản phẩm ong – Phương pháp xác định hàm lượng đường khử tự do

Bee products – Determination of reduction sugar content

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng đường khử của mật ong tự nhiên và sữa chúa tự nhiên.

1 Khái niệm: theo TCVN 5260:1990.

2 Lấy mẫu: theo TCVN 5261:1990.

3 Phương pháp xác định

3.1 Phương pháp xác định hàm lượng đường khử tự do của mật ong tự nhiên

3.1.1 Nguyên tắc: Đường khử tự do có trong mật ong tự nhiên tác dụng với dung dịch pheling A và pheling B, cation Cu^{2+} tạo ra đồng oxit có màu đỏ. Cation Cu^{+} bị cation Fe^{3+} oxy hoá tạo thành cation Cu^{2+} và Fe^{2+} , cation Fe^{2+} tạo thành bị kali pemanganat oxy hoá trở thành Fe^{3+} . Căn cứ vào quá trình phản ứng trên tính được lượng đồng hoàn nguyên, từ đó tính được lượng đường khử tự do có trong mật ong tự nhiên.

3.1.2 Dụng cụ và hoá chất

- Cân phân tích;
- Bếp điện;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bình tam giác chịu nhiệt dung tích 250 ml;
- Cốc cân dung tích 50 ml;
- Đũa thuỷ tinh;
- Bình định mức, dung tích 100 ml, 200 ml, 1000 ml;

TCVN 5266:1990

- Buret dung tích 250 ml, chia độ đến 0,1 ml;
- Pipet chia vạch, dung tích 10 ml;
- Pipet định mức, dung tích 5 ml;
- Ống đong chia vạch, dung tích 250 ml;
- Bình lọc hút chân không;
- Giấy lọc mịn;
- Natri hydroxit (NaOH), dung dịch 25 %;
- Axit sulfuric (H_2SO_4) nồng độ theo thể tích 1:10;
- Kali pemanganat ($KMnO_4$), dung dịch 0,1 N;
- Dung dịch pheling A: hoà tan 40 g đồng sulfate ngậm 5 phân tử nước ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) trong nước cất và pha thành 1000 ml.
- Dung dịch pheling B: hoà tan 200 g kali natri tatarat trong 100 ml nước cất, thêm vào đó dung dịch natri hydroxit đã được pha trước (150 g natri hydroxit hoà tan trong 200 ml nước cất). Lắc đều và thêm nước cất đủ 1000 ml.
- Dung dịch sắt (III) sulfate ($Fe_2(SO_4)_3$): hoà tan 50 g sắt sulfate trong một ít nước cất, thêm vào đó 200 ml axit sulfuric đậm đặc ($d = 1,84$) để nguội và thêm nước cất vừa đủ 1000 ml. Dung dịch này không được có sắt (II) nên trước khi dùng nhỏ vài giọt kali pemanganat 0,1 N cho đến khi dung dịch có màu hồng nhạt.

3.1.3 Tiến hành thử

Dùng cân phân tích cân khoảng 3 g mật ong chính xác tới 0,001 g vào cốc thuỷ tinh, dung tích 50 ml. Hoà tan mẫu bằng một lượng nhỏ nước cất, chuyển dung dịch mẫu sang bình định mức dung tích 100 ml, tráng nhiều lần và lên thể tích đến vạch mức 100 ml. Dung dịch này gọi là dung dịch A.

- Lấy 10 ml dung dịch A cho vào bình định mức khác, dung tích 100 ml thêm nước cất đến vạch mức. Dung dịch này gọi là dung dịch B.
- Cho vào bình tam giác, dung tích 250 ml lần lượt: 10 ml pheling B và 20 ml nước cất. Đặt bình tam giác lên bếp điện và đun đến sôi. Dùng pipet hút 5 ml dung dịch B cho vào dung dịch đang sôi ở bình tam giác. Giữ dung dịch sôi tiếp đúng 2 min kể từ khi bắt đầu sôi lại. Lấy bình tam giác ra và đặt nghiêng cho kết tủa lắng xuống. Khi kết tủa đã lắng hết, gạn phần nước bên trên sang phễu lọc của bình lọc hút chân không hoặc ống quay ly tâm. Khi lọc chú ý tránh để đồng oxit tiếp xúc với không khí bằng cách luôn giữ một lớp nước bên trên lớp kết tủa, rửa nhiều lần như thế bằng nước cất đun sôi đến khi không còn màu xanh.
- Đổ ngay khoảng 10 ml dung dịch sắt (III) sulfate vào lớp cặn còn lại trong bình tam giác. Sau khi lọc xong nhập cặn và giấy lọc vào bình tam giác, thêm 20 ml dung dịch sắt (III) sulfate rồi thêm 10 ml dung

dịch axit sulfuric nồng độ theo thể tích 1 : 10 và chuẩn ngay bằng kali pemanganat 0,1 N cho đến khi dung dịch có màu hồng nhạt bền vững trong 30 s.

- Thể tích kali pemanganat 0,1 N dùng để chuẩn độ (ml) nhân với 6,36 và với hệ số điều chỉnh (K) của kali pemanganat 0,1 N rồi tra bảng Bertrand (Bảng 1) để tìm số lượng đường chuyển hoá (a_1) tương ứng bằng miligam trong 5 ml dung dịch mật ong.

3.1.4 Xử lý kết quả

Hàm lượng đường khử (X_1) tính bằng % khối lượng theo công thức sau:

$$X_1 = \frac{a_1 \times V_1 \times V_2}{5 \times 10 \times m \times 1000} \times 100$$

trong đó:

- a_1 : khối lượng đường chuyển hoá tính theo bảng Bertrand (Bảng 1);
- V_1 : thể tích bình định mức chứa dung dịch mật ong (A), tính bằng mililit;
- V_2 : thể tích bình định mức chứa dung dịch mật ong (B), tính bằng mililit;
- 5 : thể tích dung dịch mật mang phân tích, tính bằng mililit;
- 10 : thể tích dung dịch mật (A) lấy để pha dung dịch phân tích (B), tính bằng mililit;
- m : khối lượng mật ong mẫu, tính bằng gam;
- 1000 : đổi ra gam.

3.2 Xác định hàm lượng đường khử của sữa chứa tự nhiên

3.2.1 Dụng cụ và hoá chất: như quy định ở 3.1.2 và thêm

- Dung dịch pheling A: hoà tan 69,28 g đồng sulfat với nước cất và lên thể tích đến vạch mức 1000 ml;
- Dung dịch pheling B: hoà tan 346 g kali natri tatarat và 100 g natri hydroxit với nước cất và lên thể tích đến vạch mức 1000 ml;
- Natri thiosulfat, dung dịch 0,1 N;
- Hồ tinh bột, dung dịch 1 %;
- Kali iodua (KI), nguyên chất;
- Axit sulfuric (H_2SO_4), dung dịch 25 %.

3.2.2 Nguyên tắc: cho vào dung dịch pheling A và dung dịch pheling B một lượng sữa chứa cần định lượng.

TCVN 5266:1990

Lượng đường trong mẫu không đủ để khử hoàn toàn cation đồng (II) trong dung dịch pheling. Lượng cation đồng (II) dư tác dụng với kali iodua để đẩy iốt ra. Dùng natri thiosulfat 0,1 N định lượng iốt. Lượng đường chứa trong dung dịch mẫu được xác định bằng hiệu số giữa mẫu trắng và mẫu chuẩn.

3.2.3 Tiến hành thử

Dùng cân phân tích cân 3 g sữa chứa chính xác đến 0,001 g, hoà tan với một lượng nhỏ nước cất, chuyển sang bình định mức dung tích 100 ml, thêm nước cất đến vạch mức.

- Cho vào bình tam giác chịu nhiệt dung tích 250 ml, lần lượt 10 ml dung dịch pheling A, 10 ml dung dịch pheling B và 30 ml dung dịch sữa chứa tự nhiên.
- Đặt bình tam giác lên bếp điện đun đến sôi và giữ dung dịch sôi 3 min tính từ lúc bắt đầu sôi. Lấy bình tam giác ra để nguội, thêm 3 g kali iodua đã hoà tan trong 10 ml axit sulfuric 25 % và định lượng ngay bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N cho đến khi dung dịch chuyển từ nâu sang vàng nhạt. Thêm 18 ml dung dịch hồ tinh bột nồng độ 1 % và định lượng chậm cho đến khi dung dịch mất màu và không thay đổi trong 3 min.

Song song với việc chuẩn mẫu thí nghiệm tiến hành thử mẫu trắng.

Lượng đường glucoza được tính bằng hiệu số giữa số mililit natri thiosulfat của mẫu trắng (N) và mẫu thử (n) (Bảng 2).

3.2.4 Tính kết quả

Hàm lượng đường khử (X_2) được tính bằng % khối lượng theo công thức sau:

$$X_2 = \frac{a \times 100}{30 \times P \times 1000} \times 100$$

trong đó:

a_2 : lượng đường khử tính bằng miligam (tra Bảng 2);

P : khối lượng mẫu cân để phân tích, tính bằng gam;

100 : thể tích pha loãng;

30 : lượng dung dịch sữa chứa tự nhiên dùng để phân tích, tính bằng mililit;

1000 : chuyển ra miligam.

3.3 Kết quả là trung bình cộng của ít nhất 2 lần thử đồng thời có sai lệch giá trị không quá 0,2 %.

Bảng Bertrand xác định hàm lượng đường chuyển hoá

Bảng 1

Hàm lượng đường chuyển hoá (mg)	Lượng đồng (mg)	Hàm lượng đường chuyển hoá (mg)	Lượng đồng (mg)	Hàm lượng đường chuyển hoá (mg)	Lượng đồng (mg)	Hàm lượng đường chuyển hoá (mg)	Lượng đồng (mg)
10	20,6	33	64,8	56	105,7	79	143,7
11	22,6	34	66,7	57	107,4	80	145,3
12	24,6	35	68,5	58	109,2	81	146,9
13	26,5	36	70,3	59	110,9	82	148,5
14	28,5	37	72,2	60	112,6	83	150,0
15	30,5	38	74,0	61	114,3	84	151,5
16	32,5	39	75,9	62	115,9	85	153,2
17	34,5	40	77,7	63	117,6	86	154,8
18	36,4	41	79,5	64	119,2	87	156,4
19	38,4	42	81,2	65	120,9	88	157,9
20	40,4	43	83,0	66	122,6	89	159,5
21	43,3	44	84,8	67	124,2	90	161,1
22	44,2	45	86,5	68	125,9	91	162,6
23	46,1	46	88,3	69	127,5	92	164,2
24	48,0	47	90,1	70	129,2	93	165,7
25	49,8	48	91,9	71	130,8	94	167,3
26	51,7	49	93,6	72	132,4	95	168,8
27	53,6	50	95,4	73	134,0	96	170,3
28	55,5	51	97,1	74	135,6	97	171,9
29	57,4	52	98,3	75	137,2	98	173,4
30	59,3	53	100,6	76	138,9	99	175,0
31	61,1	54	102,3	77	140,5	100	176,5
32	63,0	55	104,0	78	142,1		

Bảng tính hàm lượng đường glucoza

Bảng 2

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (N-n) ml	Glucoza (mg)	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (N-n) ml	Glucoza (mg)
1	3,2	15	49,3
2	6,3	16	52,8
3	9,4	17	56,3
4	12,6	18	59,8
5	15,9	19	63,3
6	19,2	20	66,9
7	22,4	21	70,7
8	25,6	22	74,5
9	28,9	23	78,5
10	32,3	24	82,6
11	35,7	25	86,6
12	39,0	26	90,8
13	42,4	27	94,6
14	44,8	28	98,9

GHI CHÚ: (N-n) trong đó:

N: Lượng natri thiosulfat dùng để chuẩn cho mẫu trắng, tính bằng mililit.

n: Lượng natri thiosulfat dùng để chuẩn cho mẫu thí nghiệm, tính bằng mililit.