

PGS. TS. LÊ THANH MAI (Chủ biên)
PGS. TS. NGUYỄN THỊ HIỀN, PGS. TS. PHẠM THU THỦY
TS. NGUYỄN THANH HẰNG, ThS. LÊ THỊ LAN CHI

CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH NGÀNH CÔNG NGHỆ LÊN MEN



**PGS.TS. LÊ THANH MAI (CHỦ BIÊN),
PGS.TS. NGUYỄN THỊ HIỀN, PGS.TS. PHẠM THU THỦY,
TS. NGUYỄN THANH HẰNG, ThS. LÊ THỊ LAN CHI**

CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH NGÀNH CÔNG NGHỆ LÊN MEN



**NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI**

60-6C8.5 6-216-04
KHKT-05

LỜI MỞ ĐẦU

Cuốn sách "**CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH NGÀNH CÔNG NGHỆ LÊN MEN**" được tập thể các cán bộ thuộc Bộ môn Công nghệ các sản phẩm lên men, Viện Công nghệ Sinh học - Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, biên soạn.

Cuốn sách được đưa ra nhằm mục đích làm giáo trình giảng dạy cho sinh viên ngành Công nghệ lên men và ngành Công nghệ Thực phẩm nói chung, và làm tài liệu tham khảo cho sinh viên, các cán bộ nghiên cứu, cán bộ kỹ thuật trong các viện nghiên cứu, các nhà máy cũng như các cơ quan quản lý có liên quan đến chuyên ngành chế biến thực phẩm, đặc biệt trong lĩnh vực sản phẩm đồ uống lên men.

Cuốn sách được chia ra 3 phần chính, gồm 15 chương:

Phần I: Giới thiệu các phương pháp phân tích các nguyên liệu chính dùng trong sản xuất các sản phẩm bia, rượu, nước giải khát, mì chính như hạt đại mạch, malt, các nguyên liệu chứa tinh bột, ri đường, hoa houblon, quả và nước.

Phần II: Nêu các phương pháp phân tích kiểm tra hóa lý các sản phẩm lên men: bia, rượu, vang, rượu etylic, mì chính và chế phẩm enzym.

Phần III: Các phương pháp phân tích vi sinh vật, từ phương pháp kiểm tra độ tiệt trùng, phương pháp định tính, định lượng vi sinh vật cho tới các phương pháp phân tích một số chỉ tiêu vi sinh vật trong các sản phẩm thực phẩm.

Danh sách tác giả biên soạn:

Chương 1, 2, 5, 8 và 11: PGS.TS. Nguyễn Thị Hiền, ThS. Lê Thị Lan Chi.

Chương 3, 4 và 9: TS. Nguyễn Thanh Hằng.

Chương 6, 7, 10, 13, 14 và 15: PGS. TS. Lê Thanh Mai.

Chương 12: PGS. TS. Phạm Thu Thủy.

Đây là tài liệu được biên soạn trên cơ sở tài liệu thí nghiệm chuyên ngành đã được giảng dạy trong thời gian qua của Bộ môn cùng các tài liệu tham khảo khác trong và ngoài nước.

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc xuất bản cuốn sách này.

Cuốn sách được xuất bản lần đầu nên không tránh khỏi thiếu sót. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn và trân trọng tiếp nhận những ý kiến đóng góp của các bạn đọc gần xa để lần tái bản sau được hoàn chỉnh hơn.

Các ý kiến đóng góp xin gửi về Bộ môn Công nghệ các sản phẩm lên men, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, điện thoại 04 8680119.

Các tác giả

PHẦN 1

PHÂN TÍCH NGUYÊN LIỆU

Chương 1

PHÂN TÍCH HẠT ĐẠI MẠCH

1.1. ĐỘ ẨM

1. Mục đích

Xác định hàm lượng ẩm của đại mạch bằng khối lượng mất đi trong quá trình sấy ở điều kiện tiêu chuẩn.

Phương pháp này áp dụng cho các loại hạt đại mạch, nhưng không dùng cho malt. Đối với đại mạch có độ ẩm lớn hơn 17% cần phải sấy sơ bộ trước khi xác định.

2. Nguyên tắc

Đại mạch được sấy sơ bộ (nếu cần), rồi nghiền mịn. Sấy trong tủ sấy đã đạt nhiệt độ tiêu chuẩn. Độ ẩm được tính toán dựa vào khối lượng mất đi trong quá trình sấy.

3. Dụng cụ

- Máy nghiền trục phòng thí nghiệm (với khoảng cách giữa 2 trục là 0,2 mm).
- Tủ sấy có thể điều chỉnh nhiệt độ trong khoảng $\pm 2^{\circ}\text{C}$, đặt nhiệt độ 130 – 133 $^{\circ}\text{C}$.
- Cốc cân làm bằng kim loại hoặc bằng nhôm, đường kính khoảng 50 mm và không sâu quá 20 mm, có nắp đậy kín.
- Bình hút ẩm.
- Cân phân tích, độ chính xác tới 0,001 g.

4. Tiến hành

- Cân khoảng 20 g mẫu hạt đại mạch và nghiền mịn. Trộn kỹ, lấy ngay khoảng 5 g bột nghiền vào hộp nhôm sạch khô đã biết trước trọng lượng, đậy

nắp và cân với độ chính xác 0,001 g. Mở nắp, đặt hộp và nắp vào tủ sấy đã đạt nhiệt độ 130 – 133°C, bắt đầu tính thời gian khi tủ sấy đạt nhiệt độ này. Sau 2 giờ sấy, lấy hộp ra, đậy nắp, làm nguội trong bình hút ẩm đến nhiệt độ phòng (thường khoảng 30 – 40 phút). Cân lại hộp.

Chú ý: Nếu mẫu đại mạch có độ ẩm trên 17% (khối lượng), lấy khoảng 6 g mẫu hạt chưa nghiền cho ngay vào hộp sạch khô, đã biết trước trọng lượng, đậy nắp và cân với độ chính xác 0,001 g. Sấy trong tủ sấy 60°C khoảng 10 phút và làm nguội về nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ (không dùng bình hút ẩm, không đậy nắp). Sau đó mới xác định độ ẩm của mẫu đã sấy sơ bộ như trên.

5. Kết quả

$$\text{Độ ẩm} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100, \% \text{ (m/m)}$$

trong đó:

m_1 - khối lượng mẫu trước khi sấy, g;

m_2 - khối lượng mẫu sau khi sấy, g.

Đối với đại mạch có độ ẩm trên 17% sử dụng công thức:

$$\text{Độ ẩm} = \left(1 - \frac{m_2 \cdot m_4}{m_1 \cdot m_3}\right) \times 100, \% \text{ (m/m)}$$

trong đó:

m_3 - khối lượng mẫu trước khi sấy sơ bộ (g);

m_4 - khối lượng mẫu sau khi sấy sơ bộ (g).

1.2. KHỐI LƯỢNG 1000 HẠT

1. Mục đích

Xác định khối lượng trung bình của hạt, chỉ tiêu này được dùng để đánh giá chất lượng các loại hạt đại mạch, ngũ cốc và malt.

2. Nguyên tắc

Đếm số hạt đại mạch trong mẫu cân phân tích. Sau đó tính toán để biết khối lượng của 1000 hạt đại mạch khô (tính theo g).

3. Dụng cụ

- Máy đếm hạt tự động (nếu có).
- Cân phân tích, độ chính xác tới 0,01 g.

4. Tiến hành

- Cân 40 g hạt đại mạch cân phân tích, loại bỏ những hạt vỡ, hạt lạ và trừ khối lượng. Tiếp đó, đếm bằng tay hoặc bằng máy số hạt trong mẫu.

5. Kết quả

Tính khối lượng 1000 hạt đại mạch theo chất khô theo công thức:

$$G = \frac{M \times 1000 \times (100 - W)}{n \times 100} \text{ , g}$$

trong đó:

G - khối lượng 1000 hạt đại mạch khô (g);

M - khối lượng mẫu phân tích (g);

W - độ ẩm (% m/m);

n - số lượng hạt trong lô mẫu phân tích.

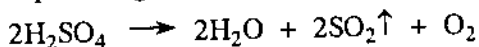
1.3. NITƠ TỔNG SỐ

1. Mục đích

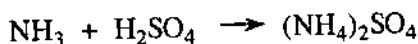
Xác định hàm lượng nitơ tổng số trong hạt bằng phương pháp Kjeldahl. Phương pháp được áp dụng cho mọi loại hạt đại mạch có hàm lượng nitơ $\leq 2,4\%$, nếu hàm lượng nitơ lớn hơn $2,4\%$ thì phải giảm lượng mẫu.

2. Nguyên tắc

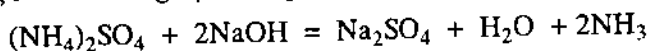
Trước tiên mẫu được vô cơ hóa bằng H_2SO_4 đậm đặc ở nhiệt độ cao và có chất xúc tác. Các phản ứng của quá trình vô cơ hóa xảy ra như sau:



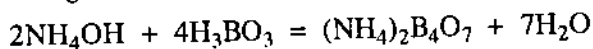
Oxy tạo thành lại oxy hóa các nguyên tố khác: carbon tạo thành CO_2 , hydro tạo thành H_2O , còn nitơ giải phóng ra dưới dạng NH_3 kết hợp với H_2SO_4 dư tạo thành $(NH_4)_2SO_4$ tan trong dung dịch.



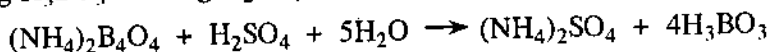
Đuổi NH_3 ra khỏi dung dịch bằng NaOH



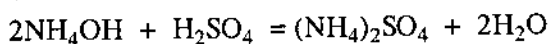
NH_3 bay ra cùng với nước sang bình hứng, trong bình hứng chứa H_3BO_3 :



Định lượng H_3BO_3 dư bằng H_2SO_4 0,1N



hoặc H_2SO_4 :



Định lượng H_2SO_4 dư bằng NaOH có cùng nồng độ đương lượng gam.

3. Hóa chất

- H_2SO_4 đậm đặc, $d = 1,84$
- Dung dịch H_2SO_4 0,1N chuẩn
- Dung dịch NaOH 0,1N chuẩn
- Dung dịch NaOH 40%
- Hỗn hợp xúc tác: dung dịch HClO_3 hoặc H_2O_2 30% hoặc K_2SO_4 , CuSO_4 (100:10:1), có thể dùng selen kim loại (0,05 g) hoặc hỗn hợp K_2SO_4 và CuSO_4 tỷ lệ 3:1.
- Dung dịch H_3BO_3 3%
- Thuốc thử hỗn hợp: metyl đỏ 0,1% pha trong cồn và metyl xanh 0,1% pha trong cồn, tỷ lệ 2:1.
- Chỉ thị tariso: Hòa 0,05 g metyl xanh vào 5 ml nước cất, cho 100 ml cồn vào và hòa thêm 0,1 g metyl đỏ. Hòa tan cho vào lọ tối màu. Hỗn hợp thuốc thử này có giới hạn biến đổi màu ở pH 5,2 – 5,6. Môi trường axit có màu tím, môi trường kiềm có màu xanh lục.
- Thuốc thử Nessler để phát hiện sự có mặt nitơ trong dung dịch. Cách pha chế như sau:

Cách 1: 15 g HgI_2 , 10 g KI hòa vào 15 ml nước cất, thêm 80 ml dung dịch NaOH 50%, định mức đến 500 ml bằng nước cất.

Cách 2: 35 g KI hòa tan trong 100 ml nước cất nóng, 17 g HgCl_2 hòa tan trong 300 ml nước cất, NaOH hoặc KOH 20%. Cho dung dịch HgCl_2 vào dung dịch KI đến khi tạo thành kết tủa HgI_2 không tan nữa thì dừng lại. Sau đó dùng dung dịch kiềm 20% định mức đến 1 lít. Tiếp đó thêm 5 ml dung dịch HgCl_2 đến khi xuất hiện kết tủa đỏ HgCl_2 . Để lắng kết tủa đến khi dung dịch trong hoàn toàn. Bảo quản trong lọ tối màu.

4. Dụng cụ

- Tủ hút
- Bộ cất đạm Kjeldahl (hình 1.1)
- Pipet 1, 2, 5, 10 ml
- Buret 25 hoặc 50 ml
- Bình định mức 50 hoặc 100 ml

- Máy nghiền trục phòng thí nghiệm
- Cân kỹ thuật, độ chính xác 0,001 g

5. Tiến hành

5.1. Vô cơ hóa nguyên liệu

- Cân khoảng 20 g mẫu đại mạch đã nghiền mịn để xác định độ ẩm và nitơ. Trộn đều mẫu, cân chính xác 1,0 – 1,5 g rồi đổ toàn bộ vào bình Kjeldahl khô (chú ý không để mẫu dính lên thành bình). Cho thêm 10 – 20 ml H_2SO_4 đậm đặc. Trước khi cho axit có thể cho vài giọt nước cất không có nitơ để thấm ướt bột. Đậy bình, lắc nhẹ rồi đặt lên bếp đun nhẹ khoảng 30 – 40 phút, sau đó nhắc bình ra, để nguội.

- Cho vài giọt chất xúc tác $HClO_3$ hoặc H_2O_2 30%, chỉ cho giai đoạn cuối khi dung dịch đã có màu vàng sẫm, hoặc cho hỗn hợp K_2SO_4 và $CuSO_4$, cho một lần ngay từ đầu, lượng chất xúc tác bằng lượng mẫu dùng để vô cơ hóa. Tiếp tục đốt trên bếp khoảng 30 phút nữa. Dung dịch sẽ chuyển từ màu đen sang màu cánh dán. Nhấc bình ra khỏi bếp, để nguội.

- Cho thêm chất xúc tác lần hai (vài giọt $HClO_3$ hoặc H_2O_2). Tiếp tục đốt trên bếp đến khi mất màu dịch trong bình. Để nguội.

- Chuyển dịch sang bình định mức 50 hoặc 100 ml, tráng bình Kjeldahl vài lần bằng nước cất không có nitơ và định mức tới gần bình.

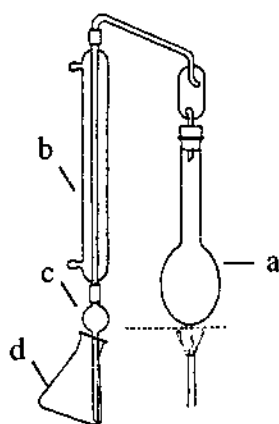
5.2. Chung cất

Sử dụng H_3BO_3 để thu nhận NH_3 :

- Rửa bình chung cất Kjeldahl bằng nước cất không có nitơ. Lấy 10 – 20 ml dung dịch đã vô cơ hóa cho vào bình phản ứng (a). Cho thêm vài giọt thuốc thử hỗn hợp nếu dùng chất xúc tác bằng $HClO_3$ hoặc H_2O_2 .

- Cho vào bình hứng (d) 20 ml H_3BO_3 3%, thêm vài giọt chỉ thị Tariso.

- Rót từ từ 70 ml NaOH 40% vào bình (a), giữ yên để phân thành 2 lớp rõ rệt. Không làm xáo trộn các lớp, lắp vào bộ cất đậm (hình 1.1). Để đầu ra của ống (c) ngập dưới dung dịch axit boric. Nền bật bếp trước



Hình 1.1: Bộ cất đậm Kjeldahl.