

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
TRƯỜNG CAO ĐẲNG LƯƠNG THỰC – THỰC PHẨM

GIÁO TRÌNH

MÔ ĐUN: PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG THỰC PHẨM

NGÀNH: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

(Ban hành kèm theo Quyết định số: 673 /QĐ-CDLTTP-ĐT ngày 03 tháng 09 năm 2020 của Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm)

Đà Nẵng, năm 2020

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Hiện nay công nghiệp thực phẩm ở nước ta đang phát triển với tốc độ nhanh. Xã hội càng phát triển, nhu cầu của con người đòi hỏi chất lượng thực phẩm ngày càng cao. Để đáp ứng yêu cầu này, ngành công nghiệp thực phẩm cần phải chú trọng đến công tác kiểm tra, đánh giá chất lượng của thực phẩm.

Việc kiểm tra chính xác chất lượng của nguyên liệu, bán sản phẩm và sản phẩm sẽ giúp ở cơ sở sản xuất đánh giá đúng đắn kết quả công việc của mình, điều khiển sản xuất theo hướng đã định, phát hiện những thiếu sót về sử dụng nguyên liệu, qui trình, thao tác, tìm ra nguyên nhân không đảm bảo phẩm chất để điều chỉnh kịp thời. Thông qua việc kiểm tra chất lượng của nguyên liệu, bán sản phẩm và sản phẩm để phân cấp chất lượng của chúng, trên cơ sở đó, tìm ra biện pháp nâng cao chất lượng sản phẩm và hiệu quả thu hồi sản phẩm nghĩa là nâng cao hiệu quả kinh tế.

Để góp phần vào công tác giảng dạy của nhà trường, tôi biên soạn Giáo trình “Phân tích chất lượng thực phẩm” làm tài liệu giảng dạy cho học viên ngành Công nghệ thực phẩm và cũng làm tài liệu tham khảo cho sinh viên, các cán bộ nghiên cứu, cán bộ kỹ thuật trong các nhà máy cũng như các cơ quan quản lý có liên quan đến ngành Công nghệ thực phẩm thuộc lĩnh vực phân tích, kiểm nghiệm thực phẩm.

Giáo trình Phân tích chất lượng thực phẩm gồm 8 bài:

Bài 01. Lấy mẫu

Bài 02. Đánh giá chất lượng cảm quan thực phẩm

Bài 03. Pha chế hóa chất

Bài 04. Vận hành máy, thiết bị thông dụng dùng trong phân tích

Bài 05. Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích

Bài 06. Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ

Bài 07. Phân tích chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm

Bài 08. Phân tích chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm

Trong quá trình biên soạn giáo trình, không tránh khỏi thiếu sót. Chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của người học, người dạy và bạn đọc, để hoàn chỉnh cho lần biên tập sau được tốt hơn.

Chúng tôi xin được gửi lời cảm ơn đến Lãnh đạo trường Cao đẳng Lương thực-Thực phẩm, các cơ sở sản xuất, các cán bộ kỹ thuật, các thầy cô giáo đã tham gia đóng góp nhiều ý kiến quý báu, tạo điều kiện thuận lợi để hoàn thành giáo trình này.

Đà Nẵng, ngày 01 tháng 8 năm 2020

Tham gia biên soạn

1. Chủ biên: Trần Thị Thanh Mẫn

2. Tham gia: Ngô Thị Song

MỤC LỤC

	TRANG
Lời giới thiệu	2
Mục lục	3
Bài 01. Lấy mẫu	6
1. Một số khái niệm chung về mẫu	6
1.1. Mẫu	6
1.2. Mẫu ban đầu	6
1.3. Mẫu chung	7
1.4. Mẫu riêng	7
1.5. Mẫu trung bình	7
1.6. Mẫu phân tích	7
2. Yêu cầu chung của việc lấy mẫu	7
3. Phương pháp lấy mẫu	7
3.1. Sơ đồ lấy mẫu	7
3.2. Các bước tiến hành lấy mẫu	8
4. Độ lớn của mẫu và số lượng mẫu	8
5. Lấy mẫu thực phẩm	8
5.1. Chuẩn bị dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu	8
5.2. Kiểm tra sơ bộ lô hàng	9
5.3. Xác định số mẫu cần lấy	9
5.4. Lấy mẫu ban đầu	10
5.5. Chuẩn bị mẫu chung, mẫu trung bình	10
5.6. Chuẩn bị mẫu thử nghiệm	10
5.7. Ghi nhãn, niêm phong, lập biên bản lấy mẫu	11
5.8. Bao gói mẫu, bảo quản mẫu, vận chuyển mẫu	12
5.9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ lấy mẫu	13
Bài 02. Đánh giá chất lượng cảm quan thực phẩm	14
1. Tính chất cảm quan của thực phẩm	14
2. Hệ thống cảm quan	15
3. Ngưỡng cảm giác	19
4. Kỹ thuật chung đánh giá các chỉ tiêu cảm quan	20
5. Các phép thử cảm quan	22
6. Đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm bia, rượu, nước giải khát	31

7. Đánh giá chất lượng cảm quan đồ hộp nước quả	37
8. Đánh giá chất lượng cảm quan bánh kẹo	40
Bài 03. Pha chế hóa chất	47
1. Tính toán hóa chất pha chế	47
2. Chuẩn bị dụng cụ, máy móc	47
3. Chuẩn bị hóa chất	47
4. Thực hiện pha chế hóa chất	47
5. Kiểm tra nồng độ hóa chất pha chế	48
6. Bảo quản, sử dụng, thanh lý hóa chất pha chế	48
Bài 04. Vận hành máy và thiết bị thông dụng dùng trong phân tích	50
1. Vận hành cân	50
2. Vận hành máy đo pH	52
3. Sử dụng khúc xạ kế, tỷ trọng kế	53
4. Sử dụng máy đếm khuẩn lạc	55
5. Vận hành máy so màu	56
6. Vận hành hệ thống xác định đạm	57
7. Vận hành một số thiết bị nhiệt	59
Bài 05. Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích	61
1. Nguyên tắc phương pháp phân tích thể tích	61
2. Xác định nồng độ Fe^{2+} trong muối Mo bằng phương pháp permanganat	63
3. Xác định nồng độ Cu^{2+} bằng phương pháp Iod	64
4. Xác định nồng độ Cl^- bằng phương pháp Morh	65
5. Xác định nồng độ Mg^{2+} , Ca^{2+} trong nước bằng phương pháp Complexon	66
Bài 06. Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ	69
1. Nguyên tắc phương pháp phân tích công cụ	69
2. Xác định nồng độ dung dịch acid bằng phương pháp chuẩn độ điện thế	73
3. Xác định nồng độ dung dịch glucose bằng phương pháp so màu	73
Bài 07. Phân tích chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm	76
1. Xác định độ ẩm	76
2. Xác định độ acid, độ kiềm, muối ăn	77
3. Xác định hàm lượng lipid	81
4. Xác định hàm lượng đường khử	83
5. Xác định hàm lượng protein	88
6. Xác định hàm lượng urea	92

7. Xác định hàn the	93
8. Xác định một số chỉ tiêu lý hóa của bia	94
9. Xác định một số chỉ tiêu lý hóa của bột mỳ	99
Bài 08. Phân tích chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm	105
1. Các phương pháp định tính, định lượng vi sinh thực phẩm	105
1.1. Các phương pháp định tính vi sinh thực phẩm	105
1.2. Các phương pháp định lượng vi sinh thực phẩm	109
2. Quy trình phân tích chỉ tiêu vi sinh thực phẩm	114
2.1. Chuẩn bị dụng cụ khử trùng	114
2.2. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy	115
2.3. Chuẩn bị mẫu	117
2.4. Nuôi cấy mẫu	118
2.5. Quan sát, đọc, tính, đánh giá kết quả	120
Hướng dẫn giảng dạy mô đun	122
Tài liệu tham khảo	123

GIÁO TRÌNH PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG THỰC PHẨM

Mã mô-đun: MĐ12

BÀI 1: LẤY MẪU

Mã bài: 01

Giới thiệu:

Lấy mẫu là bước đầu tiên cần thực hiện trong các quá trình phân tích thực phẩm. Để lấy mẫu đạt yêu cầu cần phải tuân theo những quy định nhất định. Lấy mẫu là một giai đoạn rất quan trọng trong việc đánh giá chất lượng lô sản phẩm, bởi vì mẫu phải phản ánh chính xác mọi đặc điểm chất lượng và phải đặc trưng cho thành phần trung bình của lô sản phẩm. Nếu lấy mẫu không cẩn thận hoặc không đúng phương pháp thì dù phương pháp phân tích có chính xác cũng dẫn đến việc đánh giá không đúng thực chất lô sản phẩm.

Đối với mỗi loại sản phẩm, tùy thuộc vào đặc tính riêng biệt mà có các quy định lấy mẫu khác nhau. Ở nước ta, phương pháp lấy mẫu để phân tích các chỉ tiêu được quy định trong các Tiêu chuẩn Việt Nam.



Mục tiêu:

- Nêu được khái niệm về mẫu và các loại mẫu;
- Trình bày được yêu cầu chung và các bước tiến hành lấy mẫu;
- Lập được sơ đồ lấy mẫu;
- Thực hiện thao tác lấy mẫu thực phẩm đúng trình tự, chính xác và an toàn theo quy định;
- Bảo quản mẫu, vận chuyển mẫu, gửi mẫu, vệ sinh dụng cụ lấy mẫu đúng theo quy định;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành.

A. Nội dung:

1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CHUNG

1.1. Lô hàng (lot)

Lô hàng hay lô sản phẩm là lượng hàng nhất định có cùng một tên gọi, cùng một hạng chất lượng, cùng một loại bao gói, cùng một nhãn hiệu, sản xuất trong cùng một xí nghiệp và cùng một khoảng thời gian gần nhau, cùng một giấy chứng nhận chất lượng, vận chuyển cùng một phương tiện và được giao nhận cùng một lúc.

1.2. Mẫu (sample)

Là một đơn vị sản phẩm hoặc nhóm đơn vị sản phẩm được lấy ra từ một tập hợp (tổng thể) để cung cấp thông tin và có thể là cơ sở để đưa ra quyết định đối với tập hợp đó.

1.3. Mẫu ban đầu (mẫu điểm, Increment)

Là một lượng sản phẩm được lấy cùng một lúc từ một đơn vị tổng thể

1.4. Mẫu riêng (*Separate sample*)

Mẫu riêng (còn gọi là mẫu cơ sở) là mẫu thu được bằng cách phối hợp N mẫu ban đầu lấy từ một tập hợp để làm đại diện cho tập hợp đó.

1.5. Mẫu chung (mẫu gốc, *Bulk sample*)

Là tập hợp tất cả các mẫu riêng của một tập hợp.

1.6. Mẫu trung bình (*Laboratory sample*)

Là mẫu được chuẩn bị từ mẫu chung nhằm để tiến hành các phân tích.

1.7. Mẫu phân tích (*Analysis sample*)

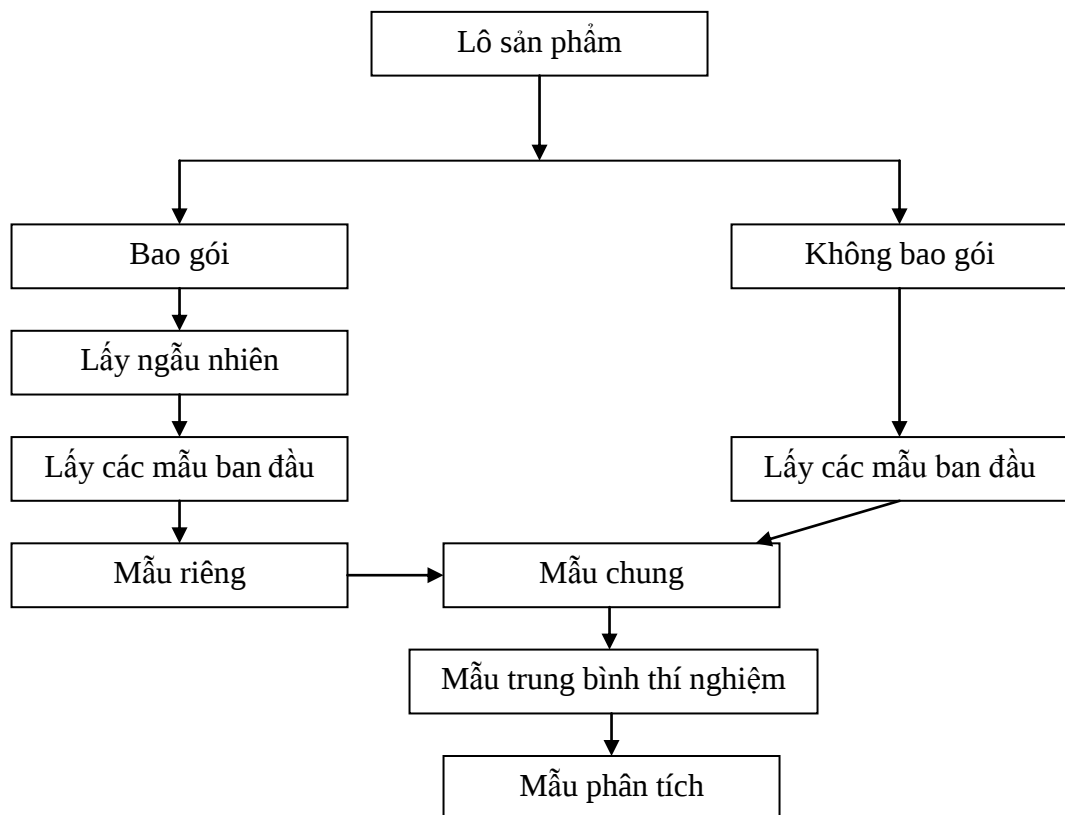
Là lượng sản phẩm được lấy ra từ mẫu trung bình dùng để xác định một chỉ tiêu chất lượng nhất định.

2. YÊU CẦU CHUNG CỦA VIỆC LẤY MẪU

- Mẫu lấy phải đại diện về mặt phẩm chất cho một lô hàng.
- Mẫu phải có phẩm chất ổn định trong thời gian lưu và bảo quản.
- Mẫu phải đúng qui cách, dụng cụ, cách lấy và số lượng lấy từng loại sản phẩm cụ thể theo qui định.

3. PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU

3.1. Sơ đồ lấy mẫu:



3.2. Các bước tiến hành lấy mẫu

3.2.1. Xác định địa điểm lấy mẫu

Lấy mẫu tại nơi bảo quản, bốc dỡ hay vận chuyển, tại từng điểm trong quá trình sản xuất, tại các điểm nhập nguyên liệu và xuất thành phẩm.

3.2.2. Xác định vị trí lấy mẫu

- Đối với các sản phẩm lỏng như : nước mắm, tương, dầu ăn... thường được chứa trong các thùng to hoặc các bể. Dùng ống cao su sạch khô hoặc cắm vào những vị trí trên, dưới, giữa, bên cạnh bể hay thùng để hút hoặc khuấy kỹ cho đều trước khi hút.
- Đối với các nguyên liệu và sản phẩm ở dạng rắn như gạo, bột, chè... thì lấy đều ở trên, dưới, giữa các bao hoặc đống ở vị trí trong lô hàng đồng nhất.
- Đối với các thực phẩm đóng gói dưới thể đơn vị như hộp, chai... mẫu sẽ giữ nguyên bao bì.

Chú ý: Nếu như ngẫu nhiên một diện tích trên bề mặt sản phẩm bị dây bẩn thì phải nhẹ nhàng bỏ đi. Trường hợp sự dây bẩn ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm hoặc làm thay đổi tính chất của sản phẩm thì không được loại bỏ mà phải xem đó như là một thành phần của sản phẩm.

3.2.3. Lấy mẫu hàng

Có hai trường hợp lấy mẫu hàng:

- Trường hợp sản phẩm có bao gói
- Trường hợp sản phẩm không bao gói

4. ĐỘ LỚN CỦA MẪU VÀ SỐ LƯỢNG MẪU

Để kết quả phân tích lô hàng được chính xác, cần xem xét độ lớn của mẫu. Nhìn chung, mẫu ban đầu, mẫu riêng, mẫu chung càng lớn khi thành phần của mẫu càng kém đồng nhất, hàm lượng của thành phần cần tìm càng nhỏ. Lô hàng càng lớn thì mẫu chung càng lớn.

Đối với mẫu trung bình thí nghiệm, lượng mẫu cần phải đủ để tiến hành phân tích mỗi chỉ tiêu 3 lần. Tùy theo loại sản phẩm thực phẩm mà độ lớn của mẫu trung bình thí nghiệm cần lấy khác nhau. Ví dụ: đối với dầu thực vật, lượng mẫu có thể từ 500 – 750ml, nước mắm từ 500 - 750ml. Mỗi loại sản phẩm đều có qui định lấy mẫu cụ thể trong Tiêu chuẩn Việt Nam.

Nếu mẫu trung bình thu được có khối lượng lớn, cần tiến hành việc giản lược để làm giảm cỡ mẫu. Cách tiến hành như sau:

Mẫu được trải lên một bề mặt sạch và chia ra bốn phần, hai phần đối diện được kết hợp với nhau. Nếu khối lượng vẫn còn lớn, tiếp tục quá trình đó cho đến khi thu được lượng mẫu thích hợp. Phương pháp này có thể được cải biến để áp dụng đối với chất lỏng đồng thể bằng cách đổ vào 4 bình chứa và có thể thực hiện một cách tự động.

5. LẤY MẪU THỰC PHẨM

5.1. Chuẩn bị dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu

Dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu phải phù hợp:

Các loại sản phẩm khác nhau có những dụng cụ lấy mẫu khác nhau. Hình dáng, vật liệu chế tạo và độ lớn, độ dài của dụng cụ lấy mẫu và dụng cụ chứa mẫu đều phải dựa vào các tiêu chuẩn phù hợp cho từng loại sản phẩm riêng biệt.

Các sản phẩm dạng lỏng hoặc khí thường dùng các dụng cụ ống dây, ống xiphông... từ vật liệu bằng nhựa, thủy tinh.

Dụng cụ lấy mẫu từ các túi hàng: xiên bao tải, hình trụ xiên, hình nón, muống xúc cầm tay...

Dụng cụ lấy mẫu từ đóng hàng: xẻng, muống xúc cầm tay, dụng cụ lấy mẫu hình trụ, hình nón...

Tóm lại, cần sử dụng những dụng cụ lấy mẫu sao cho có thể lấy được mẫu từ những độ dày bất kỳ của các lớp khác nhau của lô hàng và dụng cụ đó không làm thay đổi, ảnh hưởng đến tính chất của sản phẩm.

5.2. Kiểm tra sơ bộ lô hàng

Trước khi lấy mẫu phải kiểm tra sơ bộ tính đồng nhất của lô hàng dựa theo các qui định chung và đối chiếu với hồ sơ lô hàng kèm theo, kiểm tra đầy đủ tình trạng bao bì của lô hàng đó.

Nếu lô hàng đang bảo quản trong kho thì phải kiểm tra tình trạng kho.

Trường hợp sản phẩm không đồng nhất thì phải chia lô hàng ra nhiều phần, mỗi phần có tính chất gần như nhau làm một lô hàng riêng biệt.

Trước khi lấy mẫu cần xem xét bao gói ngoài của sản phẩm và trong thùng mùng có thể cần xem xét bao gói của từng đơn vị sản phẩm. Sản phẩm trong bao gói bị hư hỏng phải được loại bỏ và ghi chú trong biên bản lấy mẫu.

5.3. Xác định số mẫu cần lấy

Tùy theo từng loại thực phẩm mà quy định số mẫu cần lấy

Ví dụ: Đối với rau quả tươi, quy định số mẫu cần lấy đối với sản phẩm có bao gói và sản phẩm được xếp thành đồng được quy định ở bảng 1.1 và 1.2 như sau:

- Đối với sản phẩm được bao gói: các mẫu được lấy ngẫu nhiên như trong bảng 1.1

Bảng 1.1. Quy định số mẫu lấy đối với sản phẩm có bao gói

STT	Số bao gói giống nhau trong lô	Số bao gói được lấy, mỗi bao gói là mẫu ban đầu.
1	Đến 100	5
2	101 đến 300	7
3	301 đến 500	9
4	501 đến 1000	10
5	Trên 1000	Ít hơn 15

- Đối với sản phẩm được xếp thành đống: Mỗi lô phải lấy ít nhất 5 mẫu ban đầu tùy theo tổng khối lượng hay tổng số bó như trong bảng 1.2

Bảng 1.2. Quy định số mẫu lấy đối với sản phẩm được xếp thành đống

STT	Khối lượng của lô (Kg) hay tổng số bó trong lô	Tổng số khối lượng của mẫu sơ cấp (kg) hay tổng số bó được lấy
1	Đến 200	10
2	201 đến 500	20
3	501 đến 1000	30
4	1001 đến 5000	60
5	Trên 5000	Ít nhất là 100

5.4. Lấy mẫu ban đầu

Được lấy ngẫu nhiên từ các vị trí khác nhau trong lô. Tùy vào dạng của sản phẩm mà lấy mẫu:

- *Lấy mẫu dạng rắn*

Khi lấy mẫu dạng rắn là hạt, cục cần chú ý đến sự không đồng đều về kích thước của sản phẩm. Cần lấy mẫu sao cho sự phân bố các hạt, cục trong mẫu gần giống với sự phân bố của chúng trong lô hàng.

- *Lấy mẫu dạng lỏng, sệt, bột nhão*

Trước khi lấy mẫu ban đầu, cần khuấy trộn đều sản phẩm.

Nếu sản phẩm phân thành lớp và khó khuấy trộn thì mẫu phải lấy từ mỗi lớp với tỷ lệ tương đương với lượng sản phẩm của lớp đó.

Nếu sản phẩm đang chảy hoặc đang khuấy đảo tốt thì cần làm với dụng cụ đựng sản phẩm để lấy mẫu.

Cần phải lấy mẫu ở tất cả các độ cao của chất lỏng (tránh lấy ở gần thành ống, chỗ uốn, gấp khúc).

5.5. Chuẩn bị mẫu chung, mẫu trung bình

Mẫu chung được lập ra, nếu yêu cầu, bằng cách gộp và nếu có thể bằng cách trộn lẫn các mẫu ban đầu. Mẫu rút gọn, nếu được yêu cầu, lập ra bằng cách làm giảm mẫu chung. Việc phân tích được tiến hành trên mẫu chung hay mẫu rút gọn và việc này phải được tiến hành càng nhanh càng tốt sau khi lấy mẫu để tránh một số biến đổi về các đặc tính cần phân tích.

Mẫu chung phải dàn đều, được chia 4 phần bằng nhau, lấy 2 phần đối diện (cứ rút gọn như vậy cho đến khi lượng mẫu rút gọn gấp đôi lượng mẫu thử nghiệm)

Thực hiện càng nhanh càng tốt

5.6. Chuẩn bị mẫu thử nghiệm

Mẫu rút gọn phải dàn đều, được chia 4 phần bằng nhau, lấy 2 phần đối diện làm mẫu thử nghiệm, 2 phần còn lại làm mẫu lưu.

Tùy theo loại mẫu thực phẩm, chỉ tiêu cần xác định và phương pháp phân tích mà việc chuẩn bị mẫu cần phải được tiến hành theo qui định phù hợp với từng trường hợp cụ thể. Sau đây chỉ giới thiệu một số công việc chuẩn bị mẫu thông thường:

- Nghiền mẫu

Đối với nhiều loại chỉ tiêu phân tích, cần phải nghiền mẫu đến kích thước phù hợp để phân tích. Tùy thuộc vào loại thức phẩm mà người ta có thể sử dụng nhiều loại thiết bị nghiền khác nhau.

- Vô hoạt enzyme

Nhiều loại thực phẩm có chứa những enzyme có thể làm thay đổi thành phần của chất cần phân tích như trà xanh, phomai.... Chính vì vậy cần bảo vệ các chất này bằng các phương pháp phù hợp với từng loại thực phẩm. Thông thường, có thể dùng nhiệt để vô hoạt enzyme hoặc bảo quản lạnh đông để ức chế enzyme, hoặc có thể thay đổi pH, thêm muối hay chất kim hãm.

- Chống oxy hóa chất béo

Sự có mặt của chất béo trong mẫu sản phẩm phân tích cần phải được chú ý khi chuẩn bị mẫu. Thực phẩm có hàm lượng chất béo cao gây khó khăn cho quá trình nghiền. Chất béo chưa bão hòa rất dễ bị oxy hóa và nên bảo quản trong nitơ hoặc ở điều kiện chân không. Các chất chống oxy hóa có thể được sử dụng để bảo vệ chất béo nếu chúng không ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Điều kiện bảo quản cũng giúp hạn chế quá trình oxy hóa và phương pháp bảo quản ở nhiệt độ thấp được áp dụng cho hầu hết các loại thực phẩm.

- Kim hãm sự phát triển và lây nhiễm VSV

VSV hiện diện trong hầu hết các loại thực phẩm và có thể phá hủy các thành phần của mẫu phân tích. Mặc dù đã được vô trùng bề mặt nhưng sự nhiễm bẩn chéo vẫn có thể xảy ra nếu thao tác mẫu không cẩn thận. Chính vì vậy, việc giữ nguyên tình trạng mẫu là vấn đề rất quan trọng trong phân tích vi sinh. Các biện pháp như làm đông, làm khô và sử dụng chất bảo quản cần được cân nhắc để sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp nhằm bảo quản mẫu thực phẩm. Nhìn chung, các phương pháp được lựa chọn tùy thuộc vào khả năng nhiễm bẩn, điều kiện bảo quản, thời gian bảo quản và chỉ tiêu cần phân tích.

5.7. Ghi nhãn, niêm phong, lập biên bản lấy mẫu

5.7.1. Ghi nhãn

Nhãn phải có kích cỡ thích hợp, sáng màu, không thấm nước, khó tẩy xóa, dễ đọc và bao gồm một số thông tin cần thiết theo quy định.

Các mẫu gửi đi phải được ghi nhãn sao cho chúng không bị lẫn lộn. Việc ghi nhãn phải dễ đọc, bền và phải bao gồm các nội dung sau:

- Tên sản phẩm, loại và có thể cả thứ, chỉ dẫn về cấp chất lượng
- Tên người gửi
- Nơi lấy mẫu
- Ngày, và đối với sản phẩm dễ hư hỏng; thời gian lấy mẫu
- Dấu nhận biết lô và mẫu (số hiệu phiếu gửi phương tiện vận chuyển, nơi bảo quản)
- Số hiệu biên bản lấy mẫu
- Tên và chữ ký của người lấy mẫu

- Danh mục các phép thử cần tiến hành, nếu yêu cầu.

5.7.2. Niêm phong

Niêm phong được dán ở phần mép ngoài của mỗi gói mẫu (nếu cần).

Dấu niêm phong được sử dụng là con dấu riêng của đơn vị lấy mẫu. Các mẫu thí nghiệm không được thí nghiệm tại chỗ phải được đóng gói cẩn thận để đảm bảo rằng chúng được bảo quản tốt. Thùng chứa các mẫu thí nghiệm phải được niêm phong.

5.7.3. Lập biên bản lấy mẫu:

Biên bản lấy mẫu cần được soạn khi công việc lấy mẫu đã hoàn thành. Biên bản lấy mẫu phải có đầy đủ các thông tin:

- Tên, họ, địa cơ quan người lấy mẫu
- Tên họ địa chỉ người có mẫu hàng
- Ngày giờ lấy mẫu
- Lý do lấy mẫu
- Loại hàng và lượng hàng lấy mẫu
- Lượng hàng và lượng mẫu hàng
- Các điều kiện môi trường trong lúc lấy mẫu (nhiệt độ);
- Dấu hiệu cho phép nhận biết lô qua mẫu (loại bao bì, đề mục ghi nhãn...).
- Mục đích lấy mẫu và chỉ dẫn thời gian giới hạn giữa lúc lấy mẫu và thử nghiệm chất lượng trong các điều kiện bình thường
- Những lời chỉ dẫn cần thiết
- Chữ ký của hai bên hữu quan

5.8. Bao gói mẫu, bảo quản mẫu, vận chuyển mẫu

Mẫu trung bình thí nghiệm được đựng trong các dụng cụ sạch, tro để tránh sự nhiễm bẩn từ bên ngoài làm hư hỏng mẫu khi vận chuyển.

Dụng cụ chứa mẫu phải được niêm phong sao cho có thể phát hiện được trường hợp mở trái phép và gửi ngay đến phòng thí nghiệm càng sớm càng tốt.

Mẫu lấy kiểm nghiệm phải giữ lại 40% để làm đối chiếu khi có khiếu nại. Mẫu lưu phải được bảo quản trong điều kiện khô ráo, sạch sẽ, thoáng mát ở nhiệt độ và độ ẩm của không khí phù hợp với từng loại sản phẩm (vô hoạt enzyme, bảo vệ chống oxi hóa chất béo, ức chế sự phát triển và lây nhiễm vi sinh vật). Ví dụ: nếu thực phẩm có chứa các enzyme có khả năng phân hủy các thành phần thực phẩm cần phân tích thì phải vô hoạt các enzyme này. Nếu mẫu nhạy cảm với ánh sáng thì cần chứa trong các bình thủy tinh đục màu hoặc gói bằng các tấm giấy nhôm.

Thời gian lưu mẫu từ một tuần đến 3 tháng tùy theo mức độ dễ hỏng của mẫu hàng.

Mẫu gửi đi kiểm nghiệm phải được dán nhãn trên bao gói và ghi đầy đủ thông tin:

- Tên và loại sản phẩm
- Số lô hàng

- Tên cơ sở sản xuất
- Ngày tháng sản xuất
- Khối lượng mẫu
- Người lấy mẫu
- Ngày và nơi lấy mẫu

Lưu ý cách ghi nhãn mác sao cho các dấu hiệu không bị mất đi hoặc hư hỏng trong quá trình bảo quản và vận chuyển. Ví dụ: với các bao gói nhựa dùng để đựng nước đá cần được đánh dấu bằng loại mực không tan trong nước.

Nơi gửi mẫu phải kèm theo biên bản lấy mẫu và phiếu yêu cầu kiểm nghiệm.

Khi gửi mẫu đi có kèm theo báo cáo ghi rõ tình trạng lô hàng khi lấy mẫu và kỹ thuật lấy mẫu. Nếu lấy mẫu khác với tiêu chuẩn đặt ra thì cần thuyết minh rõ cơ sở của phương pháp được sử dụng.

Khi lập xong mẫu thí nghiệm phải được gửi đi càng sớm càng tốt tới nơi nhận và cũng phải vận chuyển càng nhanh càng tốt. Việc vận chuyển và bảo quản mẫu thí nghiệm phải tiến hành trong các điều kiện sao cho tránh được mọi sự thay đổi trong sản phẩm. Vì thế việc khảo nghiệm cần phải được tiến hành càng nhanh càng tốt sau khi lấy mẫu.

5.9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ lấy mẫu

Dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu phải được rửa sạch sấy hoặc lau khô, ít nhất phải được tráng còn vài lần hoặc bằng sản phẩm lấy mẫu. Sản phẩm dùng để tráng dụng cụ nhất thiết không được dùng lại để làm mẫu phân tích.

Cần đặc biệt giữ gìn cẩn thận để bảo đảm tất cả các dụng cụ lấy mẫu và chứa mẫu đều sạch, khô và không bị nhiễm bẩn ngẫu nhiên như nước, bụi. Khi lấy mẫu để kiểm tra vi sinh vật, dụng cụ lấy mẫu phải được khử trùng bằng cách rửa sạch, tráng còn trong ngoài rồi hơ trên ngọn lửa đèn cồn.

Dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu phải được vệ sinh sạch sẽ và sắp xếp theo quy định

B. Câu hỏi và bài tập thực hành

1. Trình bày các loại mẫu cần lấy khi tiến hành lấy mẫu:
 - Lô đậu nành được đổ đóng trong kho
 - Lô 1000 bao gạo được đóng trong các bao 50kg
2. Làm thế nào để phòng ngừa sự hư hỏng, biến đổi chất lượng của mẫu?
3. Hãy lập kế hoạch lấy mẫu lô nước mắm chứa trong bồn có dung tích 2000 lít.

C. Ghi nhớ

- Khái niệm về mẫu và các loại mẫu; Yêu cầu chung và các bước tiến hành lấy mẫu;
- Lập sơ đồ và lấy mẫu thực phẩm cho từng trường hợp cụ thể;
- Bảo quản mẫu, vận chuyển mẫu, gửi mẫu, vệ sinh dụng cụ lấy mẫu.

BÀI 2: ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN THỰC PHẨM

Mã bài: 02

Giới thiệu:

Phân tích cảm quan có đặc trưng là con người không chỉ là kỹ thuật viên mà còn là “thiết bị phân tích” cung cấp số liệu.

Sự đặc trưng này đã giải thích cho việc ra đời rất sớm của môn “thử nếm” và việc phát triển rất nhanh của phương pháp phân tích cảm quan trong hai thập kỷ vừa qua. Phân tích cảm quan không đòi hỏi đầu tư nhiều: việc thành lập và huấn luyện một nhóm đánh giá cảm quan không khó khăn, chi phí ít. Hơn nữa để phân tích và đánh giá chất lượng mùi vị của thực phẩm, phương pháp phân tích cảm quan là không thể thay thế. Tuy nhiên mức nhạy cảm của người thử thay đổi theo nhiều yếu tố và rất khác nhau giữa những người thử dẫn đến việc khai thác chúng hạn chế hơn phương pháp phân tích sử dụng thiết bị.



Mục tiêu:

- Trình bày được cơ sở của các phương pháp và các bước thực hiện đánh giá cảm quan thực phẩm;
- Vận dụng các phương pháp đánh giá cảm quan vào việc đánh giá cảm quan một số sản phẩm thực phẩm;
- Đánh giá được các chỉ tiêu cảm quan của một số sản phẩm thực phẩm;
- Xử lý được các số liệu, nhận xét, đánh giá kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành, thực tập;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành, thực tập.

A. Nội dung:

Đánh giá cảm quan là một phương pháp khoa học dùng để gọi lên, đo đạc, phân tích và giải thích các cảm nhận của con người đối với sản phẩm thông qua các giác quan là thị giác, khứu giác, xúc giác, vị giác và thính giác (Stone và Sidel, 1993)

1. TÍNH CHẤT CẢM QUAN THỰC PHẨM

- Tính chất về màu sắc, hình thái là các tính chất nhận biết được bằng mắt. Các tính chất này được cảm nhận ngay từ khi tiếp xúc với sản phẩm. Chúng gọi lên một sự so sánh và lựa chọn đầu tiên đối với một sản phẩm thực phẩm. Chính vì vậy màu sắc, hình dạng và cấu trúc đóng vai trò khá quan trọng trong lựa chọn thực phẩm.

- Tính chất về cấu trúc của sản phẩm được nhận biết bởi xúc giác (ngón tay, lưỡi, vòm miệng) hay thính giác khi ta sờ nắn, nhai sản phẩm. Đây là các tính chất như rắn, mềm, mịn, nhớt, giòn, độ đồng đều .v.v...

- Tính chất về mùi là các tính chất nhận biết được bằng khứu giác khi chúng ta tiếp xúc gần với sản phẩm nhất là trong khi ăn, uống.

- Tính chất mùi đóng vai trò quan trọng trong việc xác định các tính chất đặc trưng của sản phẩm, là một trong số những tính chất hiện vẫn chưa thể kiểm tra hay đo đạc bằng thiết bị và

nó tác động nhiều đến quyết định có sử dụng sản phẩm đó hay không. Đôi khi các tính chất cảm quan khác được coi là tốt nhưng có mùi lạ hay không đặc trưng cho sản phẩm lựa chọn thì sản phẩm đó sẽ không được chấp nhận.

- Tính chất về vị và mùi - vị là các tính chất nhận biết được trong miệng khi ăn hoặc uống sản phẩm. Tính chất mùi - vị giữ vai trò quan trọng nhất bởi nó biểu thị bản chất của sản phẩm, nó gọi lên cho chúng ta biết thành phần hóa học của sản phẩm.

2. HỆ THỐNG CẢM QUAN

Hệ thống cảm quan bao gồm: Thị giác, thính giác, xúc giác, vị giác và khứu giác. Nhận thức được xây dựng ở mức độ ý thức bắt đầu từ một hệ thống tin thô. Quá trình xử lý thông tin đối với quan điểm lý thuyết đó là sự nhận thức hoặc sự nhận biết. Mỗi mã hóa ứng với một dạng hoặc một hình ảnh cảm quan hoặc một dạng duy nhất.

Tổng hợp những tính chất vật lý, giải phẫu và tâm lý của các bộ phận giác quan được thể hiện ở bảng 2.1 .

Bảng 2.1. Tính chất vật lý, giải phẫu và tâm lý của các bộ phận giác quan

Hệ thống cảm giác	Bản chất tác nhân kích thích	Cơ quan tiếp nhận	Nơi hình thành	Độ lớn tâm lý
Thị giác	Quang tử	Võng mạc (nơi tiếp nhận hình ảnh)	Võng mạc (noron)	Kích thước độ chói. Thông tin màu
Thính giác	Rung của khí	Dây thần kinh ốc tai (tế bào ốc tai)	Lõi ốc tai	Chiều cao cường độ âm sắc
Xúc giác: - Sự nhạy cảm xúc giác - Sự nhạy cảm cảm giác vận động - Sự nhạy cảm nhiệt - Sự nhạy cảm hóa học nói chung	Ứng lực cơ học Ứng lực cơ học Nhiệt Phản tử khi tiếp xúc trực tiếp	Da và lớp nhầy Cơ bắp, gân và dây chằng Da và lớp nhầy Lớp nhầy	Nếp nhăn vỏ não	Gồ ghề tính se Cứng đàn hồi dẻo Nóng lạnh Nhọn chấy kích thước
Vị giác	Phản tử trong dung dịch muối	Các chồi dây thần kinh vị giác của lưỡi	Lõi của chùm thần kinh riêng	Chua đắng
Khứu giác	Phản tử ở pha khí	Lớp nhầy	Hành não khứu giác	Cường độ mùi hương thơm

2.1. Thông tin cảm giác

Để hiểu biết những tính chất cảm quan của thực phẩm là nhờ các giác quan của con người. Sự nhạy cảm của các giác quan rất quan trọng, giúp cho người đánh giá cảm quan có

những nhận xét chính đáng và đưa ra các đánh giá đúng đắn về sản phẩm. Để đánh giá, đầu tiên là tiếp nhận thông tin, truyền thông tin qua hệ cảm giác và xử lý thông tin, đó là các bước phải làm trong quá trình phân tích cảm quan.

Có thể nhận biết được các thông tin từ sản phẩm, bản thân sản phẩm phải có cơ chế kích thích đến các giác quan như: mùi, vị, ánh sáng, âm thanh, nhiệt độ .v.v... Những kích thích này phải được tiếp xúc thông qua cơ quan thụ cảm của giác quan.

Cơ quan thụ cảm của giác quan là những trung tâm bề mặt. Trên trung tâm bề mặt, hệ thống truyền tin được xây dựng và tập trung từ hàng nghìn đến hàng triệu chuỗi khuếch đại song song tạo nên một điện thế được khuếch đại đủ lớn để truyền thông tin và truyền dưới dạng điện qua hệ thống thần kinh tới bán cầu đại não. Cường độ chất kích thích được xác định bởi tần số của dòng điện còn bản chất kích thích (mặn, ngọt, chua, khét .v.v...) được xác định bởi một cơ chế khá phức tạp.

2.2. Cơ quan thụ cảm và các chỉ tiêu cảm quan

2.2.1. Mùi

Lỗ mũi thông từ bên ngoài tới phổi. Phía trên lỗ mũi có xương sụn mềm, co giãn được do đó làm thay đổi lưu lượng không khí qua mũi. Có đến vài triệu cơ quan thụ cảm trên mỗi cánh mũi và chúng được phủ đầy lông tơ mịn. Chức năng của các lông tơ này là tăng cường tối đa bề mặt tiếp xúc của các cơ quan thụ cảm với tác nhân kích thích hóa học. Chúng xuyên qua mô biểu bì và nối với dây thần kinh. Các dây thần kinh khứu giác hướng vào nhiều vùng khác nhau của não bộ, một số trong đó liên quan chặt chẽ với cảm xúc, tình cảm và ký ức.

Mùi là cảm giác hóa học gây ra bởi sự tác động của các phân tử chất bay hơi sau khi vào mũi hòa tan trong chất lỏng của niêm dịch mũi với những cơ quan thụ cảm nằm trên lông mao của màng nhầy khứu giác. Mùi có thể nhận biết mùi của những chất bay hơi có nồng độ rất thấp khoảng từ $10^7 \div 10^{17}$ phân tử trong 1 ml không khí.

- Lý thuyết hóa học

Chất có mùi rơi vào trong mũi, đầu tiên nó lan rộng ra chất lỏng bao phủ vùng khứu giác. Sau đó chất có mùi bắt đầu liên kết với một chất hóa học đặc biệt gọi là chất tiếp nhận mùi, kết quả là một chất mới phát sinh ra và tác động đến đầu cuối dây thần kinh. Chất mới này không bền vững và rất nhanh chóng bị phân hủy. Chính điều này giải thích lý do tại sao mùi không được duy trì. Khi có một mùi rất mạnh thì dần dần tất cả các chất tiếp nhận mùi đều được giữ bởi các phân tử chất có mùi. Do đó mùi không được thụ cảm nữa, vì chúng đã quen và hoàn toàn thích ứng với mùi mạnh và bền.

Nhà hóa học hữu cơ Enma đã nghiên cứu hàng trăm hợp chất hữu cơ và đưa đến kết luận có 7 mùi cơ bản, và nếu trộn các mùi đó theo tỷ lệ nhất định có thể thu được hương thơm bất kỳ.

Các mùi cơ bản này được sử dụng để huấn luyện các kiểm nghiệm viên. 7 mùi cơ bản gồm: Mùi băng phiến, mùi xạ hương, mùi hoa, mùi bạc hà, mùi ete, mùi cay, mùi thối.

- Lý thuyết lý học

Nguyên nhân gây mùi không phải là hình dáng của phân tử mà là khả năng phát sóng điện tử của chúng. Theo thuyết này, để cảm giác được mùi, không nhất thiết phân tử chất có mùi tiếp xúc với các cảm biến của tế bào. Tất cả các chất thơm đều phát ra tia hồng ngoại một cách mạnh mẽ. Mỗi chất có một phổ riêng của mình. Như vậy, phân tử chất có mùi được xem như một máy phát tia hồng ngoại độc đáo. Các tia này được thu hồi bằng máy thu là tế bào thần kinh khứu giác. Lý thuyết hóa học và lý học bổ sung cho nhau.

- Một số khái niệm về thuật ngữ mùi

+ Mùi ngửi: là cảm giác nhận được do các chất bay hơi trực tiếp qua đường mũi.

+ Mùi cảm: là cảm giác nhận được do các chất bay hơi vừa qua đường mũi, vừa qua đường hốc miệng lên mũi.

+ Mùi chính: là mùi chủ yếu đặc trưng của chất bay hơi.

+ Mùi thoảng: là mùi nhẹ hay phụ của một tập hợp chất bay hơi.

+ Mùi khuyết: là mùi có trong tập hợp chất bay hơi bị các mùi khác che lấp đi nên không thể cảm nhận được ngay, phải có biện pháp xử lý mới có thể nhận biết dễ dàng.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng cảm thụ của khứu giác bao gồm:

Thể trạng mỗi người, lứa tuổi, giới tính, các giác quan khác, thời gian, tình trạng lúc đói hay no, môi trường ngoại cảnh: độ tinh khiết của không khí, nhiệt độ, độ ẩm của không khí, ánh sáng .v.v...

2.2.2. Vị

Vị là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng đối với chất lượng thực phẩm. Cảm giác về vị rất phong phú. Vị là một cảm giác hóa học gây ra bởi các phân tử hay ion trong dung dịch khi tiếp xúc với các cơ quan thụ cảm vị. Ở người, các cơ quan thụ cảm này nằm trên mặt lưỡi, trong vòm miệng và yết hầu.

Tế bào tiếp nhận vị chủ yếu và nhạy nhất ở trên bề mặt lưỡi và được tập hợp tạo thành những cấu trúc gọi là nụ (gai) vị giác có đường kính khoảng 0.04mm. Không có tế bào tiếp nhận đặc biệt cho mỗi loại vị. Thay vào đó mỗi tế bào tiếp nhận vị có thể truyền những xung điện theo dây thần kinh đến bộ não một số hoặc tất cả các vị. Những tế bào tiếp nhận vị luôn luôn bị phá hủy bởi sự mài mòn và thay thế bằng những tế bào mới. Đời sống của những tế bào mới tiếp nhận vị khoảng 2 tuần lễ.

- 5 vị cơ bản

+ Ngọt: có nhiều chất gây cảm giác, phần lớn là các chất hữu cơ như đường, glycol, alcol, aldehyde, xetone, este, amino acid và một vài muối vô cơ. Vị ngọt cơ bản được đặc trưng bởi dung dịch đường saccharose nồng độ 20g/l.

+ Mặn: do các muối phân ly gây ra. Vị mặn của các muối khác nhau cũng khác nhau. Các ion dương gây cảm giác vị mặn là chính, các ion âm thì có vai trò yếu hơn. Vị mặn cơ bản được đặc trưng bởi dung dịch muối ăn có nồng độ từ 2g/l.

+ Chua: do acid gây ra, cường độ cảm giác chua tỷ lệ logarit nồng độ ion H^+ . Nồng độ ion này càng mạnh thì gây ra cảm giác chua càng nhiều. Vị chua cơ bản đặc trưng bởi dung dịch citride acid nồng độ 0,7g/l.

+ Đắng: do nhiều chất gây ra và hầu hết cũng là những chất hữu cơ, trong số đó có những chất mạch dài chứa nitơ và các alkaloid (cafeine, strychnine, nicotine, quinine .v.v...). Vị đắng được đặc trưng bởi dung dịch cafeine nồng độ 0,7g/l. Một số chất lúc đầu thì gây ra cảm giác ngọt nhưng sau đó lại gây ra cảm giác đắng (saccharin). Khi cảm giác đắng mạnh thì làm cho người và động vật tổng thức ăn ra ngoài. Đây có thể là mục đích quan trọng của cảm giác này vì nhiều chất độc gây chết có trong thực vật là các alkaloid có vị rất đắng.

+ Umami: vị bột ngọt, rau quả, vị ngọt thịt.

- Một số hiện tượng thường xảy ra đối với cơ quan vị giác

+ Hiện tượng thích nghi: là hiện tượng giảm khả năng nhạy cảm nhất thời của cơ quan vị giác.

+ Hiện tượng mệt mỏi: là hiện tượng mà chất kích thích có nồng độ lớn sẽ tạo nên sự hủy hoại thần kinh. Sự hủy hoại này không hồi phục ngay được.

+ Hiện tượng bù trừ: là hiện tượng khi phối hợp hai vị cơ bản với nhau lớn hơn nồng độ ngưỡng cảm. Tăng nồng độ một trong hai vị này sẽ xảy ra hiện tượng vị này lấn át vị kia hoặc kích thích vị kia.

+ Hiện tượng cạnh tranh: là hoạt động phối hợp của hai hay nhiều chất kích thích gây ra một mức cảm giác thấp hơn những tác động của mỗi kích thích riêng biệt.

+ Hiện tượng tiêu tan cảm giác: là do hai vị tác động đồng thời trên lưỡi, trong đó một vị bị chìm đi dù có nồng độ cao hơn nồng độ ngưỡng cảm.

+ Hiện tượng hòa hợp: là hiện tượng xảy ra khi phối hợp nhiều vị khác nhau.

Ngọt + chua

Ngọt + mặn

Ngọt + đắng

Đắng + chua

Đắng + mặn

+ Hiện tượng nguy trang về vị: là sự giảm cường độ hoặc thay đổi cường độ của một vị bởi một vị khác.

+ Hiện tượng cảm giác về vị: là hiện tượng khi trộn hai hay ba vị cơ bản với nhau, sẽ tạo ra một vị khác hẳn với những vị trên.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng cảm thụ của vị giác gồm:

+ Tuổi tác, thời gian trong ngày, trạng thái cơ thể, nhiệt độ.

+ Trạng thái kết cấu: chất tạo vị hòa tan trong nước dễ nhận vị hơn chất hòa tan trong dầu.

+ Điều kiện ăn uống, nghỉ ngơi: sau khi ăn một giờ, ngưỡng cảm sẽ giảm, khả năng nhạy cảm kém, trước khi ăn rất nhạy cảm với vị, ngưỡng sẽ tăng.

+ Hình thái bên ngoài của sản phẩm cũng kích thích cảm giác.

+ Kỹ thuật cảm nhận vị tùy thuộc vào từng sản phẩm nhưng phải tạo được một hợp chất của thực phẩm và nước bọt trải đều lên các tế bào vị giác.

2.2.3. Màu sắc

Màu sắc là một chỉ số quan trọng của giá trị cảm quan. Màu sắc của các sản phẩm thực phẩm không chỉ có giá trị về mặt hình thức mà còn có tác dụng sinh lý rõ rệt. Màu sắc thích hợp sẽ giúp cho cơ thể đồng hóa thực phẩm dễ dàng.

Vì vậy, trong kỹ thuật sản xuất thực phẩm không những chỉ bảo vệ màu sắc tự nhiên mà còn cho thêm chất màu mới, tạo ra những màu sắc thích hợp với tính chất và trạng thái của sản phẩm.

Mắt là cơ quan thị giác, báo cho cơ thể những cảm giác về màu sắc, hình dạng, các tính chất bề mặt và cấu trúc, trạng thái của thực phẩm như mức độ trơn, bóng, độ nhớt, độ đục .v.v...

Nguồn kích thích thị giác là ánh sáng. Mắt người nhận rõ chùm tia sáng có màu sắc từ tím chuyển sang lam, lục, vàng da cam rồi đến màu đỏ trong bước sóng khoảng 380÷740nm. (Vùng

bước sóng nhỏ hơn 380nm là vùng tia cực tím, vùng lớn hơn 740nm là vùng hồng ngoại). Các nghiên cứu gần đây cho thấy ở “nón” (là đuôi gai của thần kinh thị giác ngoại biên) có thể cảm thụ với 3 màu đơn: đỏ, lam, lục. Nếu 3 màu này tác động đồng thời thì ta có cảm giác trắng và nếu chúng hỗn hợp theo các tỉ lệ khác nhau, ta sẽ có đủ các sắc độ màu của thiên nhiên. Thị giác tiếp nhận loại kích thích vật lý, chứ không phải kích thích hóa học.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng cảm thụ của thị giác

Hình dáng, trạng thái của mẫu, cách chuẩn bị và cách trình bày mẫu, dụng cụ. Dụng cụ phải tuyệt đối đồng nhất về vật liệu, kích thước, màu sắc. Ví dụ cùng một loại rượu và lượng rượu ta sẽ thấy màu sắc khác nhau nếu chứa trong hai ly có thể tích khác nhau hay kích thước và các khuyết tật về dạng bên ngoài của rau quả sẽ được ghi nhận khác nhau tùy theo lượng sản phẩm được bày ra đĩa.

2.2.4. Xúc giác

Cơ quan xúc giác là da, niêm mạc, bề mặt lưỡi và răng. Cơ quan xúc giác báo cho cơ thể những cảm giác về tiếp xúc, va chạm, nóng, lạnh, đau, cấu trúc của vật rắn và nhớt. Trong đánh giá cảm quan thực phẩm, ta quan tâm đến cảm giác nhiệt và cảm giác va chạm.

Cảm giác nhiệt: là cảm giác về nóng và lạnh. Cảm giác về nóng lạnh liên quan đến sự mất hay tăng nhiệt lượng (calo) chứ không phải nhiệt độ cao hay thấp. Nếu giảm mất nhiều calo, ta cảm thấy lạnh chứ không hẳn vì lạnh (nhiệt độ) mà ta thấy lạnh (sốt cúm 40°C nhưng vẫn phải đắp chăn vì lạnh).

Cảm giác va chạm: xuất hiện khi da và niêm mạc ngoài tiếp xúc với một vật lạ, hoặc khi bị đè, kéo. Các giác quan có sự bổ sung, hỗ trợ và thay thế (một phần) cho nhau, xúc giác và thính giác còn có cùng một gốc. Khi gõ nhẹ lên da với tần số dùng nhanh quá, da có khả năng nhận ra từng lần va chạm riêng lẻ, nhưng nếu gõ trên 40 lần mỗi giây thì da cảm thấy sự va chạm như liên tục. Nếu tần số rung từ 16 trở lên, tai có thể nghe được âm thanh do vật rung phát ra. Như vậy nếu tần số rung từ 16÷40, ta vừa nghe được, lại vừa nhận ra bằng xúc giác.

2.2.5. Âm thanh

Âm thanh nhận biết được là kết quả của một nguồn sóng âm truyền trong môi trường đàn hồi đồng nhất và tác động lên màng nhĩ tai. Tai người nhận biết âm thanh có tần số trong khoảng 20÷20000Hz. Sóng âm sau khi truyền qua tai ngoài, đến tai giữa, tác động lên màng nhĩ được truyền qua xương búa, xương đe để tác động lên tai trong (còn gọi là ốc tai), là một ống màng cuộn hình con ốc là phần cơ bản nhận và truyền âm thanh lên não.

Thính giác dùng nhận biết độ dòn của vật khi bị cắn vỡ, bị bẻ gãy có phát ra âm thanh. Âm thanh này nếu phát ra từ trong miệng khi nhai (miệng khép kín) sẽ được truyền từ miệng lên ốc tai và cho ta âm thanh khác với âm thanh khi nhai mà miệng không khép kín. Hầu hết các âm thanh nhận được đều là hỗn hợp của các âm thanh có tần số khác nhau gọi là hợp âm.

Ví dụ: kẹo, bánh đa, vỏ bánh mỳ .v.v... Đôi khi thông qua độ dòn, xác định được độ ẩm của sản phẩm như chè, hạt cà phê sau sấy, có thể bóp bằng tay hay cắn vỡ hạt.

3. NGUỒN CẢM GIÁC

3.1. Khái niệm

Khi thử nếm, mỗi một mức kích thích cho ta một cảm giác khác nhau. Ví dụ khi nếm chè ướp hương nhài ở nồng độ hương rất thấp, chúng ta chỉ có thể biết là có ướp hương nhưng chưa giám khẳng định là hương nhài hay hương sen.

Ngưỡng cảm giác là giá trị của một kích thích cảm giác cần thiết để đạt đến một cảm giác đặc trưng nào đó. Đối với mùi vị, các giá trị ngưỡng được đo bằng nồng độ của các chất kích thích trên một chất mang nào đó.

Ngưỡng cảm giác có vai trò quan trọng trong đánh giá cảm quan. Người ta thường dùng nó để đánh giá tính nhạy cảm của các thành viên trong hội đồng cảm quan. Việc huấn luyện có thể cho phép giảm ngưỡng cảm và giảm độ phân tán giữa các thành viên. Người có ngưỡng cảm thấp, câu trả lời sẽ mang lại nhiều thông tin hơn và độ chính xác sẽ cao hơn.

3.2. Các loại ngưỡng cảm giác

- Ngưỡng cảm phát hiện: Là giá trị của một kích thích cảm giác cần thiết để gây ra được một cảm giác.

Ví dụ: Cho một loạt mẫu, hai mẫu đầu tiên là mẫu nước tinh khiết, còn các mẫu sau chứa dung dịch đường với nồng độ tăng dần. Nếm các mẫu theo thứ tự đến khi phát hiện ra dung dịch đường khác với nước tinh khiết thì ngay tại giá trị đó của dung dịch đường gọi là ngưỡng cảm phát hiện.

- Ngưỡng cảm xác định: Là giá trị của một kích thích cảm giác nhỏ nhất cho phép xác định bản chất của kích thích đó.

Ví dụ: Tiếp tục nếm các dung dịch trên với nồng độ tăng dần đến khi nhận thức được nó có vị ngọt. Tại giá trị đó của dung dịch đường gọi là ngưỡng cảm xác định.

- Ngưỡng cảm cuối cùng: Là giá trị tối đa của kích thích mà vượt qua đó cường độ cảm giác không tăng nữa.

Người thử phân biệt được hai dung dịch đường nồng độ 68% và 69%, nhưng không thể phân biệt được sự khác nhau giữa hai cốc 69% và 70%, cốc nào có cường độ ngọt lớn hơn. Vậy, ngưỡng cảm cuối cùng của người thử này là 69%.

- Ngưỡng sai biệt: Là sự khác nhau nhỏ nhất về cường độ vật lý của một kích thích để có thể nhận biết được sự khác nhau đó.

Ví dụ: Người thử nhận được 3 cốc nước đường với các nồng độ như sau: 8%; 8,87%; 9%. Khi nếm người thử nhận thấy giữa cốc 1 và 2, hoặc giữa 2 và 3 không có sự khác nhau, còn khi nếm cốc 1 và 3 thì nhận thấy cốc 3 ngọt hơn cốc 1. Vậy người thử có ngưỡng sai biệt nhỏ nhất là 1% tại nồng độ 8,87%.

Giá trị ngưỡng cảm này khác nhau ở những nồng độ khác nhau. Việc huấn luyện có thể làm giảm ngưỡng cảm và giảm độ phân tán giữa các thành viên. Người có ngưỡng cảm thấp, câu trả lời sẽ mang lại nhiều thông tin hơn và sẽ có ý nghĩa hơn. Ngưỡng cảm giác có vai trò quan trọng trong đánh giá cảm quan. Thông qua nó để ghi nhận các kết quả trả lời của hệ thống giác quan và đánh giá độ tin cậy của những trả lời đó.

4. KỸ THUẬT CHUNG ĐÁNH GIÁ CÁC CHỈ TIÊU CẢM QUAN

4.1. Kỹ thuật nhận mùi

- Sản phẩm phải được chứa đựng trong dụng cụ có cùng hình dáng, kích thước, thể tích không khí trên bề mặt thoáng phải như nhau.

- Mũi phải để cách sản phẩm một khoảng cách như nhau đối với tất cả các mẫu.

- Có thể ngửi nước lọc để làm giảm mùi đọng lại trên mũi trong thời gian đánh giá cảm quan. Khả năng nhận biết và cường độ mùi nhận được phải thuộc trực tiếp vào nồng độ chất bay hơi chứa trên bề mặt chất mang.

- Khi so sánh cường độ mùi của các mẫu, sản phẩm phải được chứa trong dụng cụ có cùng hình dạng, kích thước. Thể tích không khí trên bề mặt thoáng phải như nhau. Khi ngửi, mũi phải để cách sản phẩm khoảng cách như nhau với tất cả các mẫu.

4.2. Kỹ thuật nếm vị

- Rượu, bia .v.v... khi nếm phải “súc” sản phẩm trong miệng, có thể rít khí qua kẽ răng để chất lỏng tráng đều trên bề mặt lưỡi và có thể tới yết hầu.

- Đối với nước mắm: nếm một lượng nhỏ ở đầu lưỡi.

- Đối với các chất rắn: phải cắn, nhai nhỏ, cho nước bọt hòa tan và trải đều trên bề mặt lưỡi.

- Đối với sản phẩm cho vị đắng chát như nước chè, cafe, kẹo socola, rượu vang: việc đưa sản phẩm về cuối lưỡi và nuốt một ít sản phẩm là quan trọng vì các vị này nhận biết mạnh ở cuối lưỡi .v.v ... và sau cùng, trước khi nhổ bỏ, phải chép miệng liên tiếp vài lần hoặc ngậm một lượng thích hợp kéo dài trong một thời gian cần thiết để thụ cảm vị được tối đa.

- Không nên giữ sản phẩm trong miệng lâu vì dưới tác dụng của enzym trong nước bọt mà bản chất vị có thể bị thay đổi, ví dụ từ vị nhạt của tinh bột có thể chuyển thành vị ngọt của đường.

4.3. Kỹ thuật kiểm nghiệm màu sắc

- Các chỉ tiêu về màu sắc, hình dáng, tính đồng đều và một phần về cấu tạo trạng thái của sản phẩm là quan sát bằng mắt.

- Phải qui định rõ các điều kiện khi quan sát và trình tự kiểm nghiệm.

Ví dụ: Nếu lắc chai xirô hoặc nước ngọt để xem độ trong trước, sẽ không quan sát được trạng thái ban đầu (lớp bọt hoặc lớp dầu trên mặt) của sản phẩm, hoặc nếu đánh giá màu sắc, mùi, vị xong mới đánh giá độ bọt vì như thể khí CO₂ bị bay đi rất nhiều.

4.4. Kỹ thuật kiểm nghiệm cấu trúc trạng thái sản phẩm

- Trong miệng bề mặt lưỡi và phần cơ xung quanh vòng miệng nhạy cảm với hình dạng, cấu trúc và tính chất bề mặt của sản phẩm.

- Răng có tác dụng xác định cấu trúc của vật khi nhai.

- Xác định độ cứng hay mềm của sản phẩm có thể xác định bằng cách bấm, bẻ, bóp bằng đầu ngón tay hoặc cắn nhai bằng miệng. Để xác định độ cứng của hạt cafe rang hay kẹo lạc có thể cắn, thông qua độ cứng có thể xác định độ ẩm của sản phẩm.

- Trong kiểm nghiệm cảm quan, các đầu ngón tay và lòng bàn tay dùng để kiểm nghiệm về trạng thái và cấu trúc của sản phẩm (độ chắc của tôm sống, tôm luộc, độ mịn của bột, mắm ruốc .v.v...). Ở đây có sự phối hợp rất chặt chẽ giữa cảm giác ở ngón tay, lòng bàn tay và mắt đôi khi cả tai và lưỡi nữa.

Ví dụ: kết hợp việc dùng tay, dùng mắt, dùng lưỡi và nghe âm thanh (khi nhai con tôm luộc) sẽ dễ dàng nhận biết độ săn chắc của thịt tôm luộc.

5. CÁC PHÉP THỬ CẢM QUAN

Phép thử cảm quan là phương thức chuẩn bị, sắp xếp các mẫu thử và tổ chức cho người thử đánh giá, so sánh, mô tả các mẫu thử đó thông qua các giác quan theo quy định và mục đích của người điều hành thí nghiệm. Các phép thử cảm quan được chia thành ba nhóm:

- Các phép thử phân biệt
- Các phép thử phân tích mô tả
- Các phép thử thị hiếu

Ngoài ba nhóm trên còn có phép thử cho điểm chất lượng tổng hợp của sản phẩm (TCVN 3215-79) là tiêu chuẩn hiện đang được áp dụng để đánh giá chất lượng của sản phẩm thực phẩm ở nước ta.

5.1. Nhóm phép thử phân biệt

Thường dùng trong phân tích cảm quan để so sánh hoặc mô tả sự khác nhau về một hay nhiều tính chất của sản phẩm.

Khi sự khác nhau rất nhỏ, người ta thường dùng các phép thử sai biệt để xem xét sự khác nhau đó có phát hiện được không: phép thử tam giác, phép thử 2-3.

Khi sự khác nhau là rõ ràng, thường dùng phép thử mô tả để biểu diễn mức độ sai khác của các sản phẩm: phép thử so hàng, cặp đôi, mô tả, ước lượng, cho điểm...

Đặc điểm của nhóm phép thử phân biệt:

- Cảm quan viên phải có khả năng phát hiện các giá trị cảm quan một cách chính xác để từ đó có các kết luận tương ứng
- Cảm quan viên phải được huấn luyện kỹ và có kinh nghiệm về sản phẩm đánh giá
- Số thành viên trong hội đồng ít khoảng 5 đến 12 người

5.1.1. Phép thử tam giác

Có 3 mẫu ký hiệu bằng mã số, được biết rằng trong 3 mẫu này có 2 mẫu giống nhau. Người thử được mời xác định xem mẫu nào là mẫu không lặp lại.

Nếu người thử không xác định được mẫu không lặp lại thì họ vẫn phải trả lời một mẫu bất kỳ. Do vậy, bắt buộc phải có sự “chọn lựa gượng” nếu như người thử không thể phân biệt sự khác nhau giữa các mẫu, xác suất chọn đúng cho câu hỏi này là 1/3.



327 (A)



452 (A)



464 (B)

Hình 3.1. Minh họa về phép thử tam giác

Ứng dụng:

- + Đánh giá các thành viên trong hội đồng

+ Trả lời cho nhà sản xuất biết có sự khác biệt hay không để các nhà sản xuất có thể tăng hay giảm nồng độ chất đó.

5.5.2. Phép thử 2-3

Có 3 mẫu, trong đó có hai mẫu giống nhau. Một trong hai mẫu giống nhau này là mẫu chuẩn. Người thử được mời xác định xem trong số 2 mẫu còn lại, mẫu nào giống mẫu chuẩn. Trong phép thử này, xác suất câu trả lời đúng ngẫu nhiên là 1/2.

Ứng dụng: Phép thử 2-3 hay được dùng hơn phép thử tam giác trong trường hợp sản phẩm có dư vị mạnh, vì nó đòi hỏi ít lần nếm mẫu hơn, do đó các kiểm nghiệm viên đánh giá dễ dàng hơn.

5.5.3. Phép thử so sánh cặp đôi

Trong phép thử so sánh cặp đôi, các mẫu được chuẩn bị theo từng cặp và được ký hiệu bằng mã số. Trong mỗi cặp có một mẫu chuẩn và một mẫu cần thử.

Hãy xác định trong hai mẫu đó, mẫu nào có cường độ lớn hơn hoặc bé hơn đối với một chỉ tiêu nào đó (ngọt, chua, thơm...).

Câu hỏi thường đặt ra là mẫu nào hơn mẫu nào? Nếu người thử không nhận thấy mẫu nào hơn thì phải chọn một mẫu bất kỳ trong hai mẫu. Vì vậy xác suất câu trả lời đúng ngẫu nhiên là 1/2.

Ứng dụng: Phương pháp này dùng để so sánh qui trình sản xuất mới và cũ. Chứng minh hay không chứng minh thực sự tăng hay giảm nồng độ chất của một chỉ tiêu nào đó trong những trường hợp ta nhận thức được.

5.1.4. Phép thử sắp xếp thứ tự (so hàng)

Cho phép đánh giá một loạt mẫu thử, thành viên cần sắp xếp theo cường độ hay mức độ tăng hay giảm dần đối với một chỉ tiêu nào đó.

Để tiến hành so sánh hàng theo cách thức vị trí hàng của các mẫu, cần chú ý:

- Thứ tự thử: từ trái qua phải.
- Không lắc mạnh hay khuấy trộn (mất CO₂)
- Hình thức trình bày các mẫu phải đồng nhất, chú ý quá trình ngẫu nhiên hóa thứ tự mẫu thử.

Ứng dụng: So sánh các sản phẩm trong quá trình thực nghiệm hoặc trong quá trình cải tiến các sản phẩm dựa trên các ưu thế theo các giá trị cường độ, mức độ ưa thích của một sản phẩm nào đó.

5.1.5. Phép thử so sánh đa

Trong phép thử này, có một mẫu chuẩn được ký hiệu R và nhiều mẫu khác ký hiệu bằng mã số. Hãy so sánh từng mẫu có mã số với mẫu chuẩn và cho biết mẫu nào giống hoặc khác (hơn hoặc kém về cường độ) so với mẫu chuẩn.

5.1.6. Phương pháp pha loãng

Phép thử này sử dụng các chất vị chuẩn để pha loãng với các nồng độ khác nhau. Hãy nếm các mẫu có nồng độ khác nhau. Hãy nếm những mẫu có nồng độ tăng dần cho đến lúc phát hiện được vị tương ứng.

Ứng dụng:

- Xác định nồng độ thấp nhất có thể chấp nhận được của 1 sản phẩm để thêm vào sản phẩm khác

- Để đánh giá thành viên trong vấn đề huấn luyện mùi và vị

- Trường hợp R là nước lạnh: để xác định giá trị ngưỡng cảm phát hiện và ngưỡng cảm phân biệt của chất hòa tan trong nước.

5.1.7. *Phép thử cho điểm*

Trong thực tế nhiều khi người ta muốn so sánh nhiều mẫu với nhau về nhiều tính chất cảm quan, ở nhiều mức độ khác nhau. Ta có thể sử dụng phương pháp cho điểm theo các thang điểm khác nhau. Mỗi giá trị điểm ứng với một chất kích thích nhất định thu nhận được. Phép thử này được sử dụng phổ biến ở nước ta để đánh giá chất lượng sản phẩm thực phẩm, sẽ được trình bày chi tiết ở phần sau 1.6.

5.2. *Phép thử mô tả (profil)*

Trong phân tích cảm quan, phân tích mô tả là phương pháp tinh tế nhất. Kỹ thuật này cho phép nhà khoa học cảm quan mô tả sản phẩm một cách trọn vẹn, giúp nhận biết thành phần cơ bản và các thông số của quá trình chế biến, hoặc xác định các tính chất cảm quan liên quan tới thị hiếu người tiêu dùng. Có nhiều phương pháp phân tích mô tả. Mức độ khách quan cũng như mức độ định tính hoặc định lượng của các mô tả phụ thuộc vào kỹ thuật sử dụng chúng.

- Đặc điểm nhóm phép thử mô tả:

Phép thử gồm hai hay nhiều mẫu và người thử được mời xác định xem các mẫu này khác nhau ở những đặc tính nào và độ lớn của sự khác nhau này bằng bao nhiêu? Phép thử mô tả cũng được sử dụng để mô tả chi tiết các tính chất cảm quan của một số sản phẩm để nghiên cứu các tính chất đặc trưng của sản phẩm đó.

Phép thử gồm hai hay nhiều mẫu thử được ký hiệu bằng mã số. Dùng chữ hoặc số với thang thích ứng để mô tả mùi vị của các sản phẩm thực phẩm. Người thử được mời xác định xem các mẫu này khác nhau ở những đặc tính nào và độ lớn của sự khác nhau này là bao nhiêu?

Phép thử này yêu cầu phải qua 3 bước:

- Chọn các đặc tính cần đánh giá

- Thực hiện các phép thử sơ bộ để các thành viên cùng thống nhất cách sử dụng thang cường độ đã đưa ra.

- Đánh giá cường độ của các đặc tính đã lựa chọn.

Các kết quả được biểu diễn dưới dạng đồ thị hay hoa gió. Trong kiểu hoa gió các tính chất tốt được biểu diễn ở phần nằm trên trục ngang, còn tính chất xấu ở dưới.

Khi chỉ có một sản phẩm người ta thường biểu diễn kiểu hình bán khuyên, còn khi có nhiều sản phẩm biểu diễn kiểu biểu đồ.

Tiến hành đánh giá các chỉ tiêu cảm quan

Trước hết cần lựa chọn các đặc tính cần đánh giá (ví dụ 12 tính chất: màu vàng, hình dạng sắc nét, độ giòn, mùi bơ, mùi cháy khét, vị ngọt, vị mặn, vị béo ngậy, tính dễ tan, nhão, sạn bụi, hậu vị). Sau đó xác định thang cường độ (thang 9 điểm). Người thử sẽ nhận được phiếu cho điểm và các mẫu sản phẩm cần đánh giá, nếm từng mẫu và xác định cường độ của từng chỉ tiêu yêu cầu trên thang 9 điểm. Phiếu trả lời của phép thử mô tả như sau:

PHIẾU TRẢ LỜI									
Phép thử mô tả									
Họ và tên:					Ngày thử:				
Bạn nhận được 3 loại bánh quy A, B, C. Hãy xác định cường độ của các tính chất cảm quan của mỗi loại bánh trên thang điểm.									
	Cường độ thấp					Cường độ cao			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Màu vàng									
2. Hình dạng sắc nét									
3. Độ giòn									
4. Mùi cháy khét									
5. Mùi bơ									
6. Vị ngọt									
7. Vị béo ngậy									
8. Vị mặn									
9. Dễ tan									
10. Nhão									
11. Sạn bụi									
12. Hậu vị									
Nhận xét									

Hình 3.15. Phiếu trả lời của phép thử mô tả

Xử lý số liệu

Người điều hành thí nghiệm ghi lại điểm của từng thành viên hội đồng vào một bảng tổng hợp và tính giá trị trung bình cho từng mẫu đối với từng chỉ tiêu. Giá trị trung bình này được biểu diễn trên đồ thị dạng cột, đường gấp khúc hoặc hoa gió. Còn bảng tổng hợp để tính toán, so sánh sự khác nhau có nghĩa của hai mẫu theo chuẩn thể tích (đối với một chỉ tiêu) hoặc chuẩn F (với tất cả các chỉ tiêu). Các kết quả được biểu diễn dạng đồ thị hay hoa gió (hình 3.16, 3.17)

Trong kiểu hoa gió các tính chất tốt của sản phẩm được biểu diễn ở phần nằm trên trục ngang (mùi bơ, vị ngọt), còn tính chất xấu ở dưới (nhão, sạn bụi). Khi chỉ có một sản phẩm người ta thường biểu diễn kiểu hình bán khuyên, còn nhiều sản phẩm biểu diễn kiểu biểu đồ.

Ví dụ vẽ biểu diễn đồ thị:

Dưới đây là biểu diễn kết quả đánh giá hai loại bánh bích qui A và B dưới dạng đồ thị. Điểm trung bình cho từng mẫu đối với từng chỉ tiêu được dùng để vẽ. Ta đánh dấu điểm trung bình của từng mẫu đối với từng chỉ tiêu vào thang cường độ. Sau đó nối các điểm của sản phẩm A lại với nhau và tương tự như vậy nối các điểm của sản phẩm B. Ta có thể biểu diễn kết quả đánh giá của nhiều mẫu (không nhất thiết phải hai mẫu).

Sản phẩm : Bánh qui

A. Ngoại hình và trạng thái :

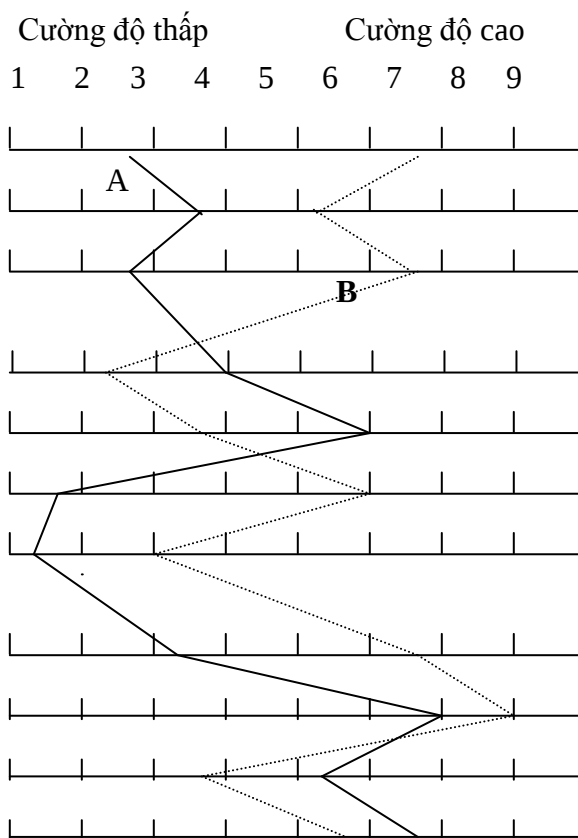
- Màu sắc
- Độ giòn
- Hình dạng

B. Người sản phẩm:

- Mùi thơm đặc trưng
- Mùi bơ
- Mùi cháy khét
- Mùi bột

C. Nếm sản phẩm:

- Vị ngọt
- Vị mặn
- Độ dễ tan
- Độ dính răng

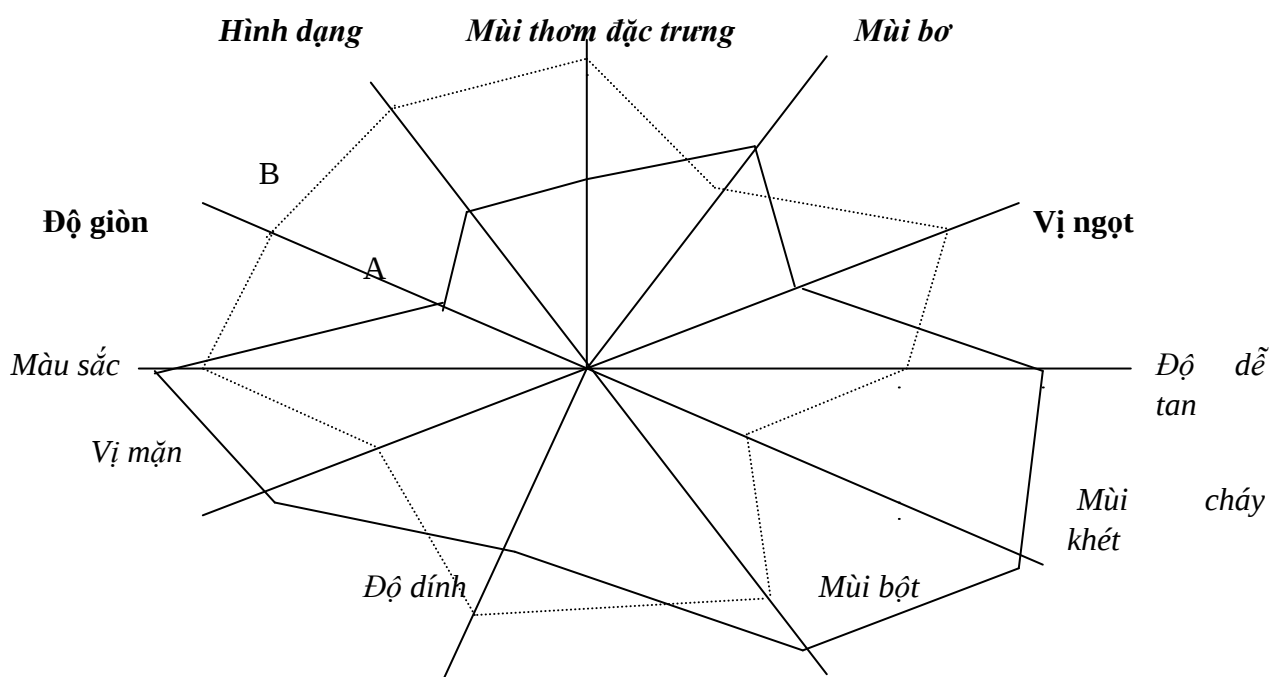


Hình 3.3. Biểu diễn kết quả đánh giá 2 mẫu bánh bích quy bằng đồ thị

Ví dụ vẽ biểu diễn hoa gió:

Ta có thể biểu diễn kết quả đánh giá của nhiều mẫu (không nhất thiết phải hai mẫu).

Ví dụ: Sản phẩm : Bánh qui



Hình 3.2. Biểu diễn kết quả đánh giá 2 mẫu bánh bích quy bằng hoa gió

Trên đây là biểu diễn kết quả đánh giá hai loại bánh bích qui A và B dưới dạng hoa gió. Các tính chất đặc trưng của sản phẩm được biểu diễn trên trục nằm ngang (màu sắc, độ giòn ..) còn tính chất không đặc trưng được biểu diễn ở dưới (độ dính răng, mùi bột...).

Điểm trung bình cho từng mẫu đối với từng chỉ tiêu được dùng để vẽ . Ta đánh dấu điểm trung bình của từng mẫu đối với từng chỉ tiêu vào thang cường độ (từ 1 đến 9). Sau đó nối các điểm của sản phẩm A lại với nhau và tương tự như vậy nối các điểm của sản phẩm B.

Nhìn vào kết quả biểu diễn profil, chúng ta có thể nhận ra 2 đặc tính của sản phẩm:

- Tính chất nào là tính chất nổi bật trong số các tính chất nghiên cứu. Đó là những tính chất có giá trị cường độ cảm quan lớn.

- Trong số các tính chất nghiên cứu (nhất là những tính chất đặc trưng), tính chất nào khác nhau giữa 2 sản phẩm.

Trong phương pháp này, các kiểm nghiệm viên phải được huấn luyện kỹ, có trình độ cao, phải nắm vững các kiến thức về mùi vị để mô tả, vì trong phương pháp này không áp dụng phương pháp phân tích thống kê.

Ứng dụng:

- Được sử dụng trong trường hợp người ta đã biết chắc chắn các mẫu có sự khác nhau nhưng chưa biết được đặc trưng của sự khác nhau đó là gì ?

- So sánh các sản phẩm trong quá trình thực hiện, trong quá trình phát triển các sản phẩm cũng như đánh giá trình độ công nghệ, mức chất lượng đã đạt được.

5.5.3. Nhóm phép thử thị hiếu

Dùng lấy ý kiến của người tiêu thụ về sự ưa thích và mức độ ưa thích đối với sản phẩm. Người ta thường dùng các phép thử cặp đôi thị hiếu, so hàng thị hiếu hay mô tả theo thang cường độ thị hiếu.

Đặc điểm của nhóm phép thử thị hiếu:

- Cảm quan viên không cần có chuyên môn đặc biệt, nhưng phải quen với SP
- Hội đồng phải đại diện cho nhóm người tiêu dùng hay từng địa phương
- Số lượng thành viên lớn khoảng trên 50 người

5.3.1. Phép thử so sánh cặp đôi

Câu hỏi thường đặt ra là mẫu nào hơn mẫu nào? Trong thử thị hiếu của người tiêu thụ câu hỏi có thể là: bạn thích mẫu nào hơn?

Ứng dụng: Phương pháp này dùng để điều tra thị hiếu người tiêu dùng đối với sản phẩm mới và cũ.

5.3.2. Phép thử cho điểm

Phép thử này yêu cầu người thử được mời đánh giá sản phẩm, họ sẽ trả lời mức độ ưa thích, hài lòng của mình đối với sản phẩm bằng thang điểm đã được định nghĩa trước thông qua các thuật ngữ mô tả cấp độ hài lòng, ưa thích.

Có nhiều loại thang điểm, tuy nhiên thang chuẩn được quan tâm nhất trong những năm gần đây là thang thị hiếu do Viện nghiên cứu thực phẩm của tổng cục Hậu cần quân đội Hoa Kỳ phát triển vào cuối những năm 1940. Phương pháp này cung cấp một thang cân đối chín điểm về mức độ ưa thích. Đây là một thang đo với những khoảng chia bằng nhau có thể dùng để phân tích thống kê.

Chín khái niệm đó là:

- | | |
|---------------------------|------------------|
| 1. Cực kỳ thích | 6. Hơi ghét |
| 2. Rất thích | 7. Ghét vừa phải |
| 3. Thích vừa phải | 8. Rất ghét |
| 4. Hơi thích | 9. Cực kỳ ghét |
| 5. Không thích không ghét | |

Để thu được thêm thông tin về thái độ của người tiêu dùng đối với sản phẩm thì ngoài việc yêu cầu người thử cho điểm mức độ hài lòng, ưa thích sản phẩm một cách toàn diện, người tiến hành thí nghiệm có thể yêu cầu người thử cho điểm thị hiếu trên từng mảng tính chất cảm quan lớn của sản phẩm như về màu sắc, mùi vị hay cấu trúc của sản phẩm cũng trên thang điểm này.

5.3.3. Phép thử sắp xếp thứ tự

Phép thử này ít được sử dụng vì đối với thành viên của phép thử này không qua huấn luyện nên việc này khó khăn cho thành viên.

Thông thường, phép thử này sắp xếp thứ tự 3 hay 4 sản phẩm theo thị hiếu người tiêu dùng được mô tả bằng từ: thích nhất, thích nhì,...

5.3.4. Phép thử thăm dò thị hiếu người tiêu dùng

Phép thử này để xác định mức độ chấp nhận đối với một sản phẩm.

Số phận của một sản phẩm thực phẩm phụ thuộc vào sự chấp nhận của người tiêu dùng, do đó nghiên cứu mức độ chấp nhận của người tiêu dùng là rất cần thiết. Nghiên cứu thăm dò thị hiếu người tiêu dùng khác hẳn với đánh giá trong phòng thí nghiệm, nơi các thành viên hội đồng chưa cần thiết phải dự tính đến phản ứng của người tiêu thụ.

Hội đồng là sự tham gia của người tiêu dùng có thể lên đến 1000 thành viên, đại diện cho các nhóm người tiêu dùng ở các địa phương khác nhau.

Áp dụng: Điều tra thị hiếu người tiêu dùng về sản phẩm mới trước khi tung ra thị trường, phép thử này được các công ty nghiên cứu thị trường được áp dụng nhiều.

5.4. Phép thử cho điểm chất lượng sản phẩm

Phương pháp này được sử dụng để đánh giá tổng quát mức chất lượng của một sản phẩm so với tiêu chuẩn hoặc so với một sản phẩm cùng loại trên tất cả các chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, mùi vị, trạng thái... Tình trạng chất lượng của mỗi chỉ tiêu được đánh giá bằng điểm. Giá trị điểm tăng theo mức tăng chất lượng.

Tùy theo sản phẩm và quốc gia mà thang điểm sử dụng rất khác nhau (thang 10, 20, 50, 100 điểm). Ở Việt Nam, dùng phương pháp này để đánh giá chất lượng của sản phẩm thực phẩm: phân cấp chất lượng của sản phẩm thực phẩm, cho phép hay không cho phép sản xuất sản phẩm. Trong phương pháp này, các kiểm nghiệm viên dựa vào sự đánh giá để cho điểm theo một thang điểm quy định. Ở nước ta, phương pháp này được quy định trong tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 3215-79.

Phương pháp này sử dụng hệ 20 điểm xây dựng trên một thang điểm thống nhất có 6 bậc (từ 0-5) và điểm từ 1- 5 ứng với mức khuyết tật giảm dần, điểm 0 ứng với chất lượng sản phẩm “bị hỏng”. Ở điểm 5 sản phẩm coi như không có sai lỗi trong tính chất đang xét.

Bảng 2.2. Nội dung mô tả tương ứng với sáu bậc đánh giá

Bậc đánh giá	Điểm chưa có trọng lượng	CƠ SỞ ĐÁNH GIÁ
1	5	Trong chỉ tiêu đang xét, sản phẩm có tính chất tốt đặc trưng và rõ rệt cho chỉ tiêu đó, sản phẩm không có sai lỗi và khuyết tật nào.
2	4	Sản phẩm có khuyết tật nhỏ hoặc sai lỗi nhỏ hoặc có cả hai nhưng không làm giảm giá trị cảm quan của sản phẩm đó.
3	3	Sản phẩm có khuyết tật hoặc sai lỗi hoặc có cả hai. Số lượng và mức độ của khuyết tật hoặc sai lỗi làm giảm giá trị cảm quan của sản phẩm đó, nhưng sản phẩm vẫn đạt theo tiêu chuẩn.
4	2	Sản phẩm có khuyết tật hoặc sai lỗi hoặc có cả hai. Số lượng và mức độ của khuyết tật hoặc sai lỗi làm cho sản phẩm không đạt mức chất lượng qui định trong tiêu chuẩn, nhưng còn khả năng bán được.
5	1	Sản phẩm có khuyết tật hoặc sai lỗi ở mức độ trầm trọng, không đạt mục đích sử dụng chính của sản phẩm đó. Song sản phẩm vẫn chưa gọi là hỏng. Sản phẩm đó không thể bán được, nhưng sau khi tái chế thích hợp, vẫn có thể sử dụng được .
6	0	Sản phẩm có khuyết tật hoặc sai lỗi ở mức độ rất trầm trọng, sản phẩm bị coi là “ hỏng “, không sử dụng được

Qui trình đánh giá phải được thực hiện trong phòng phân tích cảm quan đạt yêu cầu. Việc chuẩn bị mẫu phải phù hợp với từng loại sản phẩm theo qui định chặt chẽ. Hội đồng gồm từ 5 đến 12 chuyên gia có hiểu biết về sản phẩm được đánh giá. Hội đồng có chủ tịch và thư ký để lãnh đạo hội đồng trong quá trình làm việc.

Mỗi sản phẩm sẽ có một bảng điểm quy định theo TCVN 3215 - 79. Khi đánh giá, mỗi cảm quan viên làm việc độc lập, căn cứ kết quả ghi nhận được, đối chiếu với bảng mô tả các chỉ tiêu và dùng các số nguyên để cho điểm từ 0 → 5 ghi vào phiếu và nộp cho thư ký sau giờ làm việc.

Thư ký hội đồng sẽ tổng kết điểm của các thành viên và từ đó tính ra điểm chất lượng của sản phẩm.

Điểm chưa có trọng lượng: Là điểm từ 0 đến 5 mà các cảm quan viên cho điểm từng chỉ tiêu của một sản phẩm.

Điểm trung bình chưa có trọng lượng: Là trung bình cộng các điểm chưa có hệ số quan trọng đối với từng chỉ tiêu của các kiểm nghiệm viên, lấy chính xác đến một chữ số thập phân sau dấu phẩy.

Hệ số quan trọng: Trong một sản phẩm, các chỉ tiêu cảm quan có mức độ quan trọng khác nhau nên cần có một hệ số quan trọng để biểu thị mức độ quan trọng của chỉ tiêu đó. Do vậy, giá trị điểm đối với mỗi chỉ tiêu được nhân với một giá trị tương ứng đó gọi là hệ số quan trọng.

Khi đánh giá chứng nhận chất lượng đối với sản phẩm mới hoặc sản phẩm cải tiến, hệ số quan trọng được cơ quan có thẩm quyền về kiểm tra chất lượng tạm thời quy định sau khi đã tham khảo ý kiến của các cơ quan có liên quan.

Các chỉ tiêu có vai trò lớn thì có hệ số quan trọng lớn hơn. Các hệ số quan trọng mà đối với chỉ tiêu được cho biết trước và tổng các hệ số quan trọng của tất cả các chỉ tiêu đánh giá cho một sản phẩm là 4.

Điểm trung bình có trọng lượng: Là tích của điểm trung bình chưa có trọng lượng của một chỉ tiêu với hệ số quan trọng của chỉ tiêu đó.

Điểm chung: Là tổng điểm trung bình có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan. Điểm chung gọi là điểm chất lượng vì nó quyết định mức chất lượng của một sản phẩm.

Để phân cấp chất lượng, TCVN 3215 - 79 quy định các cấp chất lượng đối với các sản phẩm thực phẩm có điểm chung và điểm trung bình chưa có trọng lượng đối với một số chỉ tiêu tương ứng bảng 2.3. dưới đây.

Bảng 2.3. Bảng phân cấp chất lượng sản phẩm

Cấp chất lượng	Điểm chung	Yêu cầu về điểm TB chưa có trọng lượng đối với các chỉ tiêu
Loại tốt	$18,6 \div 20,0$	Các chỉ tiêu quan trọng nhất $\geq 4,7$
Loại khá	$15,2 \div 18,5$	Các chỉ tiêu quan trọng nhất $\geq 3,8$
Loại trung bình	$11,2 \div 15,1$	Mỗi chỉ tiêu $\geq 2,8$
Loại kém (không đạt mức chất lượng quy định trong tiêu chuẩn nhưng còn khả năng bán được)	$7,2 \div 11,1$	Mỗi chỉ tiêu $\geq 1,8$
Loại rất kém (không có khả năng bán được nhưng sau khi tái chế thích hợp còn sử dụng được)	$4 \div 7,1$	Mỗi chỉ tiêu $\geq 1,0$
Loại hỏng (không còn sử dụng được)	$0 \div 3,9$	

*** Chú ý :**

Để đạt yêu cầu về cấp chất lượng thì loại sản phẩm đó phải đạt cấp chất lượng loại trung bình trở lên, nghĩa là số điểm trung bình chưa có trọng lượng của mỗi chỉ tiêu cảm quan phải đạt ít nhất là 2,8 điểm và điểm số chung ít nhất phải là 11,2 đối với một sản phẩm.

Nếu một chỉ tiêu nào đó có điểm 0 thì nên tiến hành đánh giá lại chỉ tiêu đó. Khi hội đồng đã quyết định cho một chỉ tiêu nào đó điểm 0 thì sản phẩm đó bị đánh giá với số điểm bằng 0. Sản phẩm bị đánh giá là: loại hỏng.

Đối với mẫu sản phẩm đồng nhất, nhận xét của một thành viên trong hội đồng bị bác bỏ khi nhận xét đó chênh lệch quá 1,5 điểm so với điểm trung bình chưa có trọng lượng.

Ví dụ : Có 7 kiểm nghiệm viên (ký hiệu A, B, C, D, E, F, G) đánh giá sản phẩm bia với kết quả trình bày ở bảng dưới đây:

Tên chỉ tiêu	Điểm của các KNV							Tổng số điểm	Điểm TB chưa có TL	Hệ số quan trọng	Điểm TB có TL
	A	B	C	D	E	F	G				
-Màu sắc, độ trong	3	4	3	3	4	3	4	23	3,29	0,4	1,32
- Độ tạo bọt	4	4	3	3	3	2	3	22	3,14	0,8	2,51
- Mùi	3	3	4	3	4	4	3	24	3,43	0,88	2,74
- Vị	3	3	3	4	3	3	4	23	3,29	2	6,58
Điểm chung	13,15										

Loại bia trên có điểm chung 13,15 và điểm trung bình chưa có trọng lượng của các chỉ tiêu lớn hơn 2,8 nên theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79 thì bia trên đạt cấp chất lượng loại “trung bình”

6. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN CỦA SẢN PHẨM BIA, RƯỢU, NƯỚC GIẢI KHÁT

Tiến hành đánh giá trên các sản phẩm: bia, rượu, nước giải khát theo phương pháp cho điểm TCVN 3215-79. Với mỗi loại sản phẩm sinh viên sẽ nhận được 2 mẫu sản phẩm.

- Sinh viên thử và cho điểm từng chỉ tiêu riêng biệt của từng mẫu theo thang điểm từ 0-5.
- Sau khi từng thành viên cho điểm từng mẫu đối với từng chỉ tiêu thì nhóm trưởng ghi lại điểm của từng thành viên và sau đó nhóm tiến hành tính tổng điểm đối với từng chỉ tiêu cho từng mẫu và điểm trung bình chưa có hệ số quan trọng của chỉ tiêu đó.
- Xác định mức chất lượng của từng mẫu.
- Cuối buổi thí nghiệm mỗi sinh viên đều phải nộp phiếu trả lời (mẫu phiếu trả lời ở trang sau cho các loại sản phẩm khác nhau).

6.1. Đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm bia

6.1.1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu cảm quan gồm 12 chai nguyên chưa mở nắp hoặc 5 lít bia tươi chứa trong dung dịch kín, sạch không có mùi vị lạ, không ảnh hưởng đến chất lượng bia. Bảo quản mẫu nơi không có ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp. Tránh di chuyển, tác động mạnh. Thời gian chờ cảm quan phải phù hợp với thời gian bảo quản của từng loại bia. Nhiệt độ nơi bảo quản không được cao hơn 25⁰C. Đối với bia tươi bảo quản ở nhiệt độ tủ lạnh 5⁰C.

Mỗi ngày thử không quá 10 mẫu. Mỗi lần thử không quá 3 loại bia

Phân nhóm và xếp thứ tự theo nguyên tắc:

- Độ cồn tăng dần
- Chua ít đến chua nhiều
- Chất lượng tăng dần

Lau sạch bao bì các mẫu thử, chú ý chỗ nắp. Ghi mã số. Bảo quản các mẫu thử ở 12÷15⁰C, để yên lắng ít nhất 2 giờ trước khi cảm quan.

6.1.2. Dụng cụ, thanh vị

Mỗi thành viên có:

- Một cái khui
- Một ly thử độ bọt
- Một ly thử mùi vị

Dùng bánh mì lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

6.1.3. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng

Bảng 2.4. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của bia (Theo TCVN 3215 – 79)

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Độ bọt	20	0,8
2	Độ trong, màu sắc	10	0,4
3	Mùi	20	0,8
4	Vị	50	2

6.1.4. Tiến hành thử

Nếu mẫu thử trong chai: mỗi thành viên một chai

Nếu mẫu thử trong bình chung: cả hội đồng 1 bình

a. Xác định độ trong, màu sắc, độ bọt

- Xoay nhẹ chai để quan sát có cặn hoặc các vật thể lạ nhỏ.
- Rót bia vào ly thử độ bọt. Khi rót, miệng chai cách miệng ly 3cm, nghiêng 45⁰. Rót đến lúc mặt bọt gần sát miệng ly thì dừng.
- Quan sát độ trong, màu sắc, chiều dày, trạng thái bọt, thời gian bọt hết. Ghi nhận và cho điểm.

b. Xác định mùi, vị

Rót bia vào ly thử mùi, vị. Rót đến phần ly có đường kính lớn nhất. Lắc nhẹ ly theo đường vòng tròn 1÷2 lần. Đưa nhẹ ly từ xa đến gần mũi. Ngửi, ghi nhận và cho điểm về mùi.

Nhấp từng ít một để sơ bộ nhận xét vị. Sau đó hớp một ngụm bia đưa về cuối lưỡi. Khoảng 10÷15 giây nhổ bỏ. Ghi nhận và cho điểm. Cho phép nuốt một ít để nhận xét hậu vị.

6.1.5. Bảng điểm

Bảng 2.5. Bảng điểm về chỉ tiêu chất lượng cảm quan của bia (Theo TCVN 3215 – 79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Màu sắc, độ trong	5	Trong suốt, màu vàng rơm đẹp, không có vật thể nhỏ.
	4	Trong suốt, màu vàng rơm, có rất ít vật thể nhỏ riêng biệt.
	3	Trong suốt, màu vàng rơm, có ít vật thể nhỏ.
	2	Đục nhẹ, có khá nhiều vật thể nhỏ.
	1	Đục, có cặn

	0	Có vật thể lạ nhỏ, màu sắc lạ, vẫn đục như mây.
Độ tạo bọt	5	Bọt rất mịn, dày, liên kết, kết dính bền tốt, bọt trắng
	4	Bọt mịn, dày, liên kết bền, tốt, không hoàn toàn trắng.
	3	Lượng bọt đạt tiêu chuẩn, bọt không mịn, thô, không liên kết trung bình, màu nâu nhạt.
	2	Lượng bọt ít, liên kết không bền, bọt to dễ vỡ.
	1	Lượng bọt quá ít, liên kết kém, bọt quá to rất dễ vỡ.
	0	Không tạo được bọt.
Mùi	5	Thơm mùi hoa húp-lông và malt tinh khiết đặc trưng, dễ chịu, hòa hợp.
	4	Thơm đặc trưng, tinh khiết, chưa hoàn toàn hòa hợp.
	3	Thơm đặc trưng, yếu, chưa hoàn toàn tinh khiết, mùi nguyên liệu nhẹ.
	2	Thơm quá yếu, thiếu đặc trưng, không tinh khiết mùi bia non, mùi men nhỏ.
	1	Không tinh khiết quá rõ, mùi men rõ rệt, mùi chua.
	0	Mùi chua, mùi lạ.
Vị	5	Hoàn toàn thơm ngon, đặc trưng, tinh khiết, vị đắng của hoa húp-lông và malt dễ chịu, hòa hợp.
	4	Ngon thơm, đặc trưng, chưa thật hòa hợp, vị đắng khá đậm, chưa thật đặc trưng.
	3	Ngon thơm yếu, không hoàn toàn tinh khiết, vị đắng rõ, đậm, rộng nhẹ, vị đường chấy nhẹ.
	2	Ngon thơm quá yếu, không tinh khiết, có lưu vị đắng mạnh, vị men, chua nhẹ, ngứa nhẹ, nhạt nhẽo.
	1	Không có vị đặc trưng của bia, rộng, không tinh khiết rõ, ngứa chua, lợm.
	0	Vị chua rõ, có vị và lưu vị lạ.

6.1.6. Xử lý kết quả

Phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79

6.2. Đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm rượu

6.2.1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu cảm quan gồm 12 chai rượu vang nguyên chưa mở nắp hoặc 5 lít rượu vang chứa trong bình kín, sạch không có mùi vị lạ, không ảnh hưởng đến chất lượng rượu vang. Bảo quản mẫu nơi không có ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp. Tránh di chuyển, tác động mạnh. Thời gian chờ cảm quan phải phù hợp với thời gian bảo quản của từng loại rượu vang. Nhiệt độ nơi bảo quản không được cao hơn 25°C. Đối với rượu vang tươi bảo quản ở nhiệt độ 5°C.

Mỗi ngày thử không quá 10 mẫu. Mỗi lần thử không quá 3 loại rượu vang

Phân nhóm và xếp thứ tự theo nguyên tắc:

- Độ cồn tăng dần
- Chua ít đến chua nhiều
- Chất lượng tăng dần

Lau sạch bao bì các mẫu thử, chú ý chỗ nắp. Ghi mã số. Bảo quản các mẫu thử ở $12\div 15^{\circ}\text{C}$, để yên lắng ít nhất 2 giờ trước khi cảm quan.

6.2.2. Dụng cụ, thanh vị

Mỗi thành viên có:

- + Một cái khui
- + Một ly thử độ bọt
- + Một ly thử mùi vị

Dùng bánh mì lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

6.2.3. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng

Bảng 2.6. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của rượu vang (Theo TCVN 3215 – 79)

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Độ trong, màu sắc	20	0,8
2	Mùi	30	1,2
3	Vị	50	2

6.2.4. Tiến hành thử

- Nếu mẫu thử trong chai: mỗi thành viên một chai
- Nếu mẫu thử trong bình chung: cả hội đồng 1 bình

a. Xác định màu sắc, trạng thái

Lấy 100ml rượu vang cho vào cốc thủy tinh không màu dung tích 150ml. Xem quan sát màu của rượu và sự vẩn đục của rượu trong ánh sáng thường, trên nền trắng.

b. Xác định mùi, vị

Rót 50ml rượu vang vào cốc thử, dung tích $100\div 150\text{ml}$, ngay sau đó ngửi và nếm để xác định mùi, vị. Khi có rượu chuẩn cho phép thử nếm so sánh nhưng không được thử quá 3 mẫu thử. Thử nếm để so sánh mẫu thử với các mẫu chất lượng tốt đến xấu.

6.2.5. Bảng điểm

Bảng 2.7. Bảng điểm về chỉ tiêu cảm quan của rượu vang (TCVN 3215 – 79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Độ trong,	5	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ nhỏ. Màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
	4	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục, có ít vật thể lạ nhỏ. Màu đặc trưng cho sản phẩm
		Chất lỏng trong, không vẩn đục, có tương đối nhiều vật thể lạ nhỏ.

màu sắc	3	Màu hơi khác một ít so với màu đặc trưng của sản phẩm
	2	Chất lỏng hơi đục, có khá nhiều vật thể lạ nhỏ, thô. Màu khác nhiều so với màu đặc trưng của sản phẩm
	1	Chất lỏng đục, có nhiều lắng cặn, vật thể lạ, thô. Màu không đặc trưng cho sản phẩm
	0	Vẫn đục, màu bẩn, sản phẩm bị hỏng.
Mùi	5	Hòa hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chưa hoàn toàn hòa hợp, thơm đặc trưng cho sản phẩm nhưng hơi khó nhận thấy.
	3	Hơi nồng, thoảng mùi phụ, ít đặc trưng cho sản phẩm.
	2	Nồng, thoảng mùi lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm.
	1	Nồng hăng, mùi lạ rõ, không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Có mùi lạ khó chịu của sản phẩm hỏng.
Vị	5	Hòa hợp, êm dịu, hậu tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chưa hoàn toàn hòa hợp, hậu vừa phải, đặc trưng cho sản phẩm bình thường.
	3	Chưa hòa hợp, hơi gắt và sốc, hậu yếu, ít đặc trưng cho sản phẩm.
	2	Đắng, sốc, thoảng vị lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm.
	1	Đắng, sốc, vị lạ rõ, không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Có vị lạ khó chịu của sản phẩm bị hỏng.

6.2.6. Xử lý kết quả

Theo phương pháp cho điểm theo TCVN 3215 – 79

6.3. Đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm nước giải khát

6.3.1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu gồm 15 chai nguyên chưa mở nắp. Bảo quản nơi không có ánh sáng mặt trời chiếu thẳng. Nhiệt độ phòng không quá 25°C. Một lần thử không quá 10 mẫu. Mỗi lần thử không quá 4 loại. Phân nhóm và xếp thứ tự theo nguyên tắc:

- Loại không đường đến ngọt nhiều
- Ít thơm đến thơm nhiều
- Không chua đến chua nhiều
- Loại lưu vị lâu thử sau cùng

Lau sạch chai, nắp chai. Ghi mã số. Giữ các mẫu thử yên tĩnh ở 5÷10°C ít nhất 2 giờ trước khi thử.

6.3.2. Dụng cụ, thanh vị

Mỗi thành viên có:

- Một cái khui
- Cốc thủy tinh không màu có nắp
- Cốc thủy tinh không màu.

Dùng bánh mỳ lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

6.3.3. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng (Theo TCVN 3215 – 79)

Bảng 2.8. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của nước giải khát

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Độ trong	15	0,6
2	Màu sắc	10	0,4
3	Mùi	30	1,2
4	Vị	45	1,8

6.3.4. Tiến hành thử

Mỗi thành viên một chai.

a. Xác định độ trong

Quan sát sơ bộ sản phẩm còn trong chai chưa mở nút để xem có cặn và lớp tinh dầu ở mặt thoáng không. Xoay nhẹ chai để xem có vẩn đục không. Rót mẫu thử ra cốc không nắp để quan sát. Ghi nhận và cho điểm.

b. Xác định màu sắc

Quan sát màu sắc trong cốc vừa rót. Ghi nhận và cho điểm.

c. Xác định mùi

Rót mẫu thử vào cốc có nắp. Lắc nhẹ cốc theo đường vòng tròn 1÷2 lần. Ngửi. Ghi nhận và cho điểm.

d. Xác định vị

Nêm một ít mẫu thử ở đầu lưỡi. Hớp khoảng 10ml mẫu, đưa mẫu vào cuối lưỡi. Nhỏ bỏ. Ghi nhận và cho điểm. Cho phép nuốt một ít mẫu khi cần thiết.

6.3.5. Bảng điểm

Bảng 2.9. Bảng điểm về chỉ tiêu chất lượng cảm quan của nước giải khát (TCVN 3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Độ trong	5	Sản phẩm trong suốt, đồng nhất, không vẩn đục, không cặn.
	4	Sản phẩm trong đồng nhất, không có vẩn đục, không có cặn.
	3	Sản phẩm trong, không có vẩn đục, có một ít cặn, mịn.
	2	Sản phẩm hơi vẩn đục nhẹ, có cặn nhỏ hoặc có lớp tinh dầu mỏng đóng ở cổ chai.
	1	Sản phẩm đục, có nhiều cặn hoặc vật thể lạ hoặc có một lớp màng tinh dầu dầy ở cổ chai.
	0	Sản phẩm vẩn đục hay có cặn do sản phẩm bị hỏng.

Màu sắc	5	Sản phẩm có màu đặc trưng, sáng đẹp.
	4	Sản phẩm có màu đặc trưng, sáng.
	3	Sản phẩm có màu hơi đặc trưng, sáng.
	2	Sản phẩm có màu khác lạ
	1	Sản phẩm có màu quá tối, xấu
	0	Sản phẩm có màu của sản phẩm bị hỏng
Mùi	5	Thơm đặc trưng, thơm tinh khiết, hòa hợp, bền
	4	Mùi đặc trưng, thơm tinh khiết, hòa hợp chưa hoàn toàn dịu bền.
	3	Mùi hơi đặc trưng, thơm hòa hợp, bền ở mức trung bình.
	2	Mùi đặc trưng yếu hoặc có lẫn mùi lạ hoặc không bền.
	1	Mùi không đặc trưng yếu hoặc có lẫn mùi lạ gây khó chịu.
	0	Có mùi lạ khó chịu của sản phẩm bị hỏng.
Vị	5	Vị hòa hợp, thanh, êm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm, hậu vị tốt, có vị tê lưỡi mạnh của CO ₂ .
	4	Vị đặc trưng, thanh, chưa hoàn toàn hòa hợp, êm dịu, hậu vị tốt, có vị tê lưỡi của CO ₂
	3	Vị đặc trưng, thanh, dịu, hòa hợp ở mức trung bình, hậu vị vừa phải, có vị tê lưỡi của CO ₂ .
	2	Vị kém đặc trưng, gắt, có lẫn vị lạ, gây cảm giác khó chịu.
	1	Vị không đặc trưng, hay có vị lạ, gây cảm giác khó chịu.
	0	Có vị lạ khó chịu của sản phẩm bị hỏng.

1.3.6. Xử lý kết quả

Theo phương pháp cho điểm theo TCVN 3215- 79

7. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN ĐỒ HỘP NƯỚC QUẢ

Tiến hành đánh giá trên các sản phẩm: đồ hộp nước quả theo phương pháp cho điểm TCVN 3215-79. Với mỗi loại sản phẩm sinh viên sẽ nhận được 2 mẫu sản phẩm.

- Sinh viên thử và cho điểm từng chỉ tiêu riêng biệt của từng mẫu theo thang điểm từ 0-5.
- Sau khi từng thành viên cho điểm từng mẫu đối với từng chỉ tiêu thì nhóm trưởng ghi lại điểm của từng thành viên và sau đó nhóm tiến hành tính tổng điểm đối với từng chỉ tiêu cho từng mẫu và điểm trung bình chưa có hệ số quan trọng của chỉ tiêu đó.
- Xác định mức chất lượng của từng mẫu.
- Cuối buổi thí nghiệm mỗi sinh viên đều phải nộp phiếu trả lời (mẫu phiếu trả lời ở trang sau cho các loại sản phẩm khác nhau).

7.1. Chuẩn bị mẫu

Mỗi mẫu gồm 12 chai hay hộp. Bảo quản phòng mát, nhiệt độ phòng không quá 25°C. Một lần thử không quá 10 mẫu. Mỗi lần thử không quá 3 loại nước quả. Phân nhóm và xếp thứ tự theo nguyên tắc:

- Ít ngọt đến ngọt nhiều

- Ít chua đến chua nhiều
- Ít mùi đến mùi nhiều
- Ít lưu vị đến lưu vị lâu

Bóc nhãn, rửa bao bì bằng nước sạch, lau khô. Ghi mã số. Giữ các mẫu thử ở nhiệt độ phòng thử 2 giờ trước khi cảm quan.

7.2. Dụng cụ

Mỗi thành viên cần có:

- Một cái khui
- Một bechr 1 lit
- Cốc thủy tinh không màu.
- Một đĩa thủy tinh để khuấy

7.3. Thanh vị

Dùng bánh mỳ lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

7.4. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng

Bảng 2.10. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của đồ hộp quả nước đường (TCVN3215-79)

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Màu sắc	30	1.2
2	Mùi, vị	50	2,0
3	Hình thái	20	0.8

7.5. Tiến hành thử

Mỗi thành viên một chai.

Mỗi người tự lắc nhẹ hộp hay chai theo chiều đứng vài lần. Mở hộp hay chai, sơ bộ ghi nhận mùi ngay lúc mở nắp. Rót nhẹ sản phẩm ra cốc. Dùng đĩa thủy tinh khuấy đều, rót sản phẩm ra 2/3 cốc nếm thử.

a. Xác định màu sắc

Quan sát màu sắc trong cốc vừa rót.

Ghi nhận và cho điểm.

b. Xác định mùi vị

Nếm sản phẩm ở đầu lưỡi. Chấp miệng vài lần. Hớp khoảng 10ml mẫu thử đưa vào cuối lưỡi khoảng 15 giây rồi nhổ bỏ.

Cho phép nuốt khi cần thiết.

Ghi nhận và cho điểm.

c. Xác định hình thái

Quan sát trong cốc

Ghi nhận và cho điểm.

7.6. Bảng điểm

Bảng 2.11. Bảng điểm chỉ tiêu chất lượng của đồ hộp nước quả ép (TCVN3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Màu sắc	5 4 3 2 1 0	Màu sắc đặc trưng của sản phẩm. Màu sắc bình thường của sản phẩm. Ít đặc trưng. Không đặc trưng. Biến màu. Biến màu của sản phẩm hư hỏng
Mùi vị	5 4 3 2 1 0	Mùi vị rất đặc trưng. Mùi vị của sản phẩm bình thường. Ít đặc trưng. Không đặc trưng. Có mùi vị lạ. Mùi vị của sản phẩm hư hỏng
Hình thái	5 4 3 2 1 0	Có lẫn hột quả khi lắc phân tán đều Vón nhẹ, khi lắc thì tan. Vón nhẹ, lắc ít tan. Vón lắc không tan. Vón cục có tạp chất Vón cục lớn, có tạp chất.

Bảng 2.12. Bảng điểm chỉ tiêu chất lượng của đồ hộp nước quả nghiền (TCVN3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Màu sắc	5 4 3 2 1 0	Màu sắc đặc trưng của sản phẩm. Màu sắc bình thường của sản phẩm. Ít đặc trưng. Không đặc trưng. Biến màu. Biến màu của sản phẩm hư hỏng
Mùi vị	5 4 3 2 1 0	Mùi vị rất đặc trưng. Mùi vị của sản phẩm bình thường. Ít đặc trưng. Không đặc trưng. Có mùi vị lạ. Mùi vị của sản phẩm hư hỏng

Hình thái	5	Rất đặc trưng của nước quả nghiền dạng hơi sánh, đồng nhất.
	4	Đặc trưng của nước quả nghiền.
	3	Dạng đặc hay loãng còn trong yêu cầu kỹ thuật cho phép.
	2	Quá đặc hay quá loãng
	1	Có khuyết tật nặng, biểu thị sự biến chất của sản phẩm.
	0	Hình thái của sản phẩm hoàn toàn hư hỏng.

7.1.6. Xử lý kết quả

Theo phương pháp cho điểm theo TCVN 3215 – 79

8. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN BÁNH, KẸO

8.1. Đánh giá chất lượng cảm quan bánh bích quy theo phương pháp profil

8.1.1. Tiến hành đánh giá

Tiến hành đánh giá trên sản phẩm bánh bích quy theo phương pháp profil. Sinh viên sẽ nhận được 2 mẫu sản phẩm.

- Sinh viên thử và cho cường độ từng chỉ tiêu riêng biệt của từng mẫu theo thang từ 1-9.
- Cuối buổi thí nghiệm mỗi sinh viên đều phải nộp phiếu trả lời cho phép thử mô tả.

PHIẾU TRẢ LỜI									
Phép thử mô tả									
Họ và tên:		Ngày thử:							
Bạn nhận được 3 loại bánh quy A, B, C. Hãy xác định cường độ của các tính chất cảm quan của mỗi loại bánh trên thang điểm.									
	Cường độ thấp						Cường độ cao		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Màu vàng									
2. Hình dạng sắc nét									
3. Độ giòn									
4. Mùi cháy khét									
5. Mùi bơ									
6. Vị ngọt									
7. Vị béo ngậy									
8. Vị mặn									
9. Dễ tan									
10. Nhão									
11. Sạn bụi									
12. Hậu vị									
Nhận xét									

Hình 3.15. Phiếu trả lời của phép thử mô tả

8.1.2. Xử lý kết quả: Sản phẩm bánh quy được biểu diễn dạng đồ thị và hoa gió

Nhìn vào kết quả biểu diễn trên hoa gió, có thể nhận ra hai đặc tính của sản phẩm:

+ Tính chất nào là tính chất nổi bật trong số các tính chất nghiên cứu, đó là những tính chất có giá trị cường độ cảm quan lớn.

+ Trong số các tính chất nghiên cứu (nhất là những tính chất đặc trưng), hai sản phẩm khác nhau ở tính chất nào?

8.2. Đánh giá cảm quan bánh bích quy, kẹo theo phương pháp cho điểm 3215-79

Tiến hành đánh giá trên các sản phẩm: bánh bích quy, kẹo cứng. Với mỗi loại sản phẩm sinh viên sẽ nhận được 2 mẫu sản phẩm.

- Sinh viên thử và cho điểm từng chỉ tiêu riêng biệt của từng mẫu theo thang điểm từ 0-5.

- Sau khi từng thành viên cho điểm từng mẫu đối với từng chỉ tiêu thì nhóm trưởng ghi lại điểm của từng thành viên và sau đó nhóm tiến hành tính tổng điểm đối với từng chỉ tiêu cho từng mẫu và điểm trung bình chưa có hệ số quan trọng của chỉ tiêu đó.

- Xác định mức chất lượng của từng mẫu.

- Cuối buổi thí nghiệm mỗi sinh viên đều phải nộp phiếu trả lời (mẫu phiếu trả lời ở trang sau cho các loại sản phẩm khác nhau).

8.2.1. Đánh giá cảm quan bánh bích quy

a. Chuẩn bị mẫu

- Mỗi lần thử không quá 3 loại bánh và không quá 10 mẫu.

- Phân nhóm và xếp thứ tự mẫu theo nguyên tắc sau:

+ Mẫu ngọt ít đến mẫu ngọt nhiều

+ Bánh quy trước, bánh kem và bánh có nhân sau

+ Bánh ít béo trước

+ Bánh ít mùi trước

- Mọi thao tác nhanh và nhẹ nhàng, tránh làm vỡ và iu bánh. Dùng kẹp để lấy bánh.

Chuẩn bị ở 20°C.

- Bỏ bao bì ngoài và các giấy tờ có kí hiệu của nơi sản xuất

- Bỏ 1/2 mẫu thử vào túi PE to (2 lớp), cột chặt, 1/2 mẫu thử còn lại chia đều ra các túi PE nhỏ, cột chặt, ghi mã số.

b. Dụng cụ

- Bao PE chính phẩm 20 x 30cm, 15 x 20cm

- khay tráng men trắng

- Kẹp gấp

- Khăn lau

- Đĩa trắng nhỏ

c. Thanh vị

Dùng bánh mỳ lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

d. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng

Bảng 2.12. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của đồ hộp quả nước đường (TCVN3215-79)

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Màu sắc	15	0,6
2	Mùi	12,5	0,5
3	Vị	37,5	1,5
4	Trạng thái bên trong	25	1,0
5	Hình thái bên ngoài	10	0.4

e. Tiến hành thử

Bánh trong túi to được đổ nhẹ ra khay, chuyển cho từng người để xác định màu sắc và hình thái bên ngoài.

Các túi nhỏ chia cho mỗi thành viên để xác định các chỉ tiêu khác.

- Xác định màu sắc: quan sát màu của từng các bánh, độ đồng đều về màu của cả khay bánh, ghi nhận và cho điểm.

- Xác định hình thái bên ngoài: quan sát mặt bánh, hình dạng, trạng thái bên ngoài, các khuyết tật như sứt mẻ, rỗ mặt, thủng, biến dạng ... của từng các bánh và của cả khay bánh. Ghi nhận và cho điểm.

- Xác định trạng thái bên trong: bẻ bánh ra, quan sát đường gãy và cấu tạo bên trong bánh. Cắn và nhai. Ghi nhận cảm giác về nhai. Cho điểm.

- Xác định mùi: mỗi người mở túi bánh, ngửi mùi ngay lúc mở, đổ nhẹ ra đĩa, ngửi từng cái một. Cắn từng miếng bánh, nhai, đưa về cuối lưỡi để bánh tan trong nước bọt. Ghi nhận và cho điểm.

- Xác định vị: cắn từng miếng bánh. Nhai, đưa về cuối lưỡi để bánh tan trong nước bọt. Nuốt một ít để ghi nhận vị và cho điểm.

f. Bảng điểm

Bảng 2.13. Bảng điểm chỉ tiêu chất lượng của bánh bích quy (TCVN3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Màu sắc	5	Màu đặc trưng của bánh đồng đều. Rìa bánh có màu hơi đậm, nhạt dần về phía trong.
	4	Màu đặc trưng của bánh đồng đều.
	3	Màu hơi đậm, hoặc hơi nhạt so với mẫu chuẩn, không đều.
	2	Màu đậm, hơi quá lửa, hoặc màu trắng, hơi sồng hoặc lốm đốm trắng, hoặc nâu đen.
	1	Màu nâu đen, sản phẩm cháy.
	0	Sản phẩm hỏng, bỏ hoàn toàn
	5	Nguyên vẹn, mặt bánh láng đẹp, chữ và vân hoa rõ nét không biến

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Hình thái bên ngoài	4 3 2 1 0	dạng, không có tạp chất. Nguyên vẹn, mặt bánh láng đẹp, chữ và vân hoa trên mặt bánh không rõ lắm, không biến dạng, không có tạp chất. Nguyên vẹn, mặt bánh không được láng, chữ và vân hoa trên mặt bánh không rõ, không biến dạng, có một vài tạp chất nhỏ. Bánh có khuyết tật, bị biến dạng, có tạp chất. Bánh có nhiều khuyết tật, biến dạng nhiều. Sản phẩm hỏng.
Trạng thái bên trong	5 4 3 2 1 0	Bánh giòn, xốp, không lẫn tạp chất. Bánh giòn, xốp, không có tạp chất. Tương đối giòn, xốp. Có một vài tạp chất nhỏ. Không giòn xốp. Có tạp chất. Ỉu mềm, chai cứng. Nhiều tạp chất. Sản phẩm bị hỏng.
Mùi	5 4 3 2 1 0	Thơm, dậy mùi bơ, sữa, vani, và mùi rất đặc trưng của sản phẩm. Thơm, dậy mùi bơ, sữa, vani, mùi đặc trưng của sản phẩm. Thơm, không rõ mùi bơ, sữa, vani, ít đặc trưng của sản phẩm. Ít thơm, thoảng mùi hôi của bột mì thoảng mốc. Ít thơm, có mùi hôi mốc nhiều, có mùi lạ. Mùi của sản phẩm hỏng.
Vị	5 4 3 2 1 0	Vị rất đặc trưng của sản phẩm, hài hòa, hậu vị tốt. Vị đặc trưng, hài hòa. Tương đối đặc trưng, hài hòa. Kém đặc trưng. Có vị lạ. Vị của sản phẩm hư hỏng.

g. Xử lý kết quả

Theo phương pháp cho điểm theo TCVN 3215 – 79

8.2.1. Đánh giá cảm quan kẹo

a. Chuẩn bị mẫu

- Lượng cân cho mỗi mẫu không ít hơn 750g. Bảo quản mẫu trong túi PE 2 lớp.
- Mỗi lần thử không quá 3 loại kẹo và không quá 10 mẫu.
- Phân nhóm và xếp thứ tự theo nguyên tắc:
 - + Ít ngọt đến ngọt nhiều
 - + Ít mùi đến mùi nhiều

- + Kẹo mềm trước, kẹo cứng không nhân đến kẹo cứng có nhân.
- Bỏ bao bì ngoài và các giấy tờ có kí hiệu của nơi sản xuất nếu được, cho tất cả mẫu vào túi PE 2 lớp cột chặt.
- Ghi mã số vào túi PE, khay.

b. Dụng cụ

- Bao PE chính phẩm 10 x 20cm
- Kẹp gấp
- Khay tráng men trắng
- Đĩa trắng nhỏ
- Khăn lau

c. Thanh vị

Dùng bánh mỳ lát và nước trắng không mùi để thanh vị.

d. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng

Bảng 2.14. Danh mục chỉ tiêu và hệ số quan trọng của kẹo (TCVN3215-79)

Số TT	Tên chỉ tiêu	Hệ số quan trọng	
		%	Trên 4
1	Mùi, vị	55	2.2
2	Hình thái bên ngoài	20	0,8
3	Trạng thái bên trong	25	1

e. Tiến hành thử

Bóc gói giấy của từng viên kẹo, sắp kẹo trên khay dàn đều thành một lớp, chuyển cho từng người để xác định màu sắc và hình thái bên ngoài. Mỗi người lấy 8 viên bỏ vào đĩa để xác định các chỉ tiêu khác.

- Xác định màu sắc, trạng thái bên ngoài: quan sát tất cả kẹo trên khay, xác định màu sắc từng viên và tính đồng đều của các viên, tính thích hợp với viên kẹo... Xác định độ khô bề mặt, các khuyết tật như nứt mẻ, nứt, biến dạng, đồng đều kích cỡ. Đối với kẹo có nhân, quan sát tính trạng bọc kín nhân. Ghi nhận và cho điểm.

- Xác định màu sắc, trạng thái bên trong: cắn nhẹ 4 viên bằng răng hàm, nhận định tiếng kêu, tính dai xộp..., quan sát mặt cắt. Ghi nhận và cho điểm.

- Xác định mùi, vị: ngậm cả viên kẹo chứ không nhai, chấp miệng để viên kẹo tan khoảng phân nửa hoặc tan đến phần nhân mới ghi nhận mùi vị và cho điểm.

f. Bảng điểm

Bảng 2.15. Bảng điểm chỉ tiêu chất lượng của kẹo cứng không nhân (TCVN3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
	5	Màu sắc đồng đều, đặc trưng cho loại kẹo, hình dạng đẹp, vân hoa rõ nét, viên kẹo đồng đều, không có khuyết tật, mặt kẹo nhẵn, bóng, không dính giấy. Màu sắc tương đối đồng đều, đặc trưng cho loại kẹo, vân hoa rõ nét,

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Dạng bên ngoài	4	không có khuyết tật, mặt kẹo nhẵn, hơi dính giấy .
	3	Màu sắc không được đều, vân hoa chưa thật rõ nét, có lẫn kẹo có khuyết tật
	2	Màu sắc không rõ, vân hoa không rõ nét, kẹo có khuyết tật, kẹo bị chớm chảy, ướt giấy.
	1	Màu sắc biến đổi không còn vân hoa, kẹo bị biến dạng, chảy nước.
	0	Kẹo bị chảy và hồi đường hoàn toàn.
Trạng thái bên trong	5	Đặc trưng với loại kẹo cứng, giòn, không dính răng, toàn bộ viên kẹo có dạng vô định hình.
	4	Đặc trưng với loại kẹo, không dính răng, hơi cứng, giòn.
	3	Ít đặc trưng với loại kẹo, hơi dính răng, kém giòn.
	2	Không rõ đặc trưng của loại kẹo, dính răng, ít giòn, lâu tan.
	1	Không còn tính đặc trưng của loại kẹo, kẹo chảy nước và hồi đường.
	0	Kẹo chảy và hồi đường hoàn toàn.
Mùi, vị	5	Đặc trưng với loại kẹo, thơm, ngọt dịu, hơi chua.
	4	Đặc trưng với loại kẹo, ít thơm, ngọt dịu.
	3	Ít đặc trưng với loại kẹo, ít thơm ngọt.
	2	Không rõ tính đặc trưng, ngọt, không thơm.
	1	Kẹo bị hồi, có vị lạ.
	0	Kẹo bị hồi, chảy ướt, mất mùi vị.

Bảng 2.16. Bảng điểm chỉ tiêu chất lượng của kẹo mềm (TCVN3215-79)

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có HSQT	Yêu cầu
Dạng bên ngoài	5	Hoàn chỉnh (không thiếu góc, cạnh, không bị sứt góc), không bị biến dạng, không bẹp, không méo, kích thước đồng đều. Màu sắc thích hợp với tên kẹo. Khô không dính giấy.
	4	Tương đối hoàn chỉnh, không biến dạng, kích thước tương đối đồng đều. Màu sắc thích hợp với tên kẹo, khô không dính giấy.
	3	Tương đối hoàn chỉnh, hơi biến dạng, kích thước không được đồng đều.
	2	Không hoàn chỉnh, kích thước không đồng đều, biến dạng, kẹo bị ướt.
	1	Kẹo chảy, biến dạng, ướt.
	0	Dạng kẹo bị hư hỏng.
	5	Mịn, đồng nhất hoàn toàn, mềm, dẻo, không dai, không dính răng,

Trạng thái bên trong	4	hương liệu phân phối đều. Mịn, đồng nhất, mềm, dẻo, không dính răng, hương liệu phân phối đều.
	3	Tương đối mịn, đồng nhất, hơi mềm hoặc hơi cứng, không dính răng.
	2	Kẹo quá cứng, hoặc quá mềm, dính răng, có hiện tượng hồi đường.
	1	Kẹo chảy.
	0	Kẹo chảy và hồi đường.
Mùi, vị	5	Đặc trưng với loại kẹo, thơm, ngọt dịu, hoặc vị béo.
	4	Đặc trưng với loại kẹo, thơm, ngọt.
	3	Ít đặc trưng với loại kẹo, thơm, ngọt bình thường.
	2	Không đặc trưng với loại kẹo, không thơm, có vị lạ.
	1	Có vị đắng hoặc vị ôi của chất béo.
	0	Kẹo chảy, ướt, mất mùi vị.

g. Xử lý kết quả

Theo phương pháp cho điểm theo TCVN 3215 – 79

B. Câu hỏi và bài tập thực hành

1. Định nghĩa về đánh giá cảm quan.
2. Trình bày vai trò của đánh giá cảm quan trong quá trình sản xuất và chiến lược phát triển sản phẩm.
3. Trình bày đặc điểm nhóm phép thử phân biệt.
4. So sánh phép thử tam giác và phép thử 2-3?
5. Phân biệt các loại ngưỡng cảm giác.
6. Tính cấp chất lượng của một thực phẩm bất kỳ bằng phép thử cho điểm theo TCVN 3215-79.
7. Về dạng đồ thị và hoa gió theo kết quả đánh giá cảm quan một sản phẩm thực phẩm.
8. Xây dựng qui trình đánh giá cảm quan một sản phẩm thực phẩm

C. Ghi nhớ

- Cơ sở của các phương pháp và các bước thực hiện đánh giá cảm quan thực phẩm;
- Các phương pháp đánh giá cảm quan vào việc đánh giá cảm quan một số sản phẩm thực phẩm;
- Đánh giá các chỉ tiêu cảm quan của một số sản phẩm thực phẩm;
- Xử lý được các số liệu, nhận xét, đánh giá kết quả.

BÀI 3: PHA CHẾ HÓA CHẤT

Mã bài: 03

Giới thiệu:

Trong phân tích chất lượng thực phẩm, việc nồng độ của dung dịch chất chuẩn độ chính xác là rất cần thiết trong việc xác định nồng độ của dung dịch mẫu.

Pha chế hóa chất đáp ứng đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật (nồng độ, thể tích, bảo quản...) để phục vụ cho công tác kiểm tra, đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm thực phẩm là rất quan trọng.



Mục tiêu:

- Trình bày được quy trình pha chế hóa chất;
- Tính được lượng hóa chất để pha chế theo công thức;
- Thực hiện được các bước tiến hành pha chế, kiểm tra nồng độ hóa chất theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn theo quy định;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, có ý thức tiết kiệm hóa chất, bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành, thực tập;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành, thực tập.

A. Nội dung:

1. Tính toán hóa chất pha chế

Áp dụng các công thức tính để tính lượng hóa chất cần dùng để pha theo thể tích yêu cầu

$$C\% = \frac{a \cdot 100}{G_{dd}} ; \quad C_M = \frac{a}{m} \cdot \frac{1000}{V_{dd}} ; \quad C_N = \frac{a}{D} \cdot \frac{1000}{V_{dd}} ; \quad N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot N_2$$

Trong đó: a: là lượng hóa chất cần lấy (g)

2. Chuẩn bị dụng cụ, máy

- | | |
|---------------------------------------|-------------------------|
| - Cốc thủy tinh 50, 100, 250ml | - Đũa thủy tinh |
| - Phễu thủy tinh | - Ống nhỏ giọt, pipet |
| - Bình định mức 100, 250, 500, 1000ml | - Cân phân tích điện tử |
| - Bình tia đựng nước cất | - Bình đựng hóa chất |

* Yêu cầu:

- Các dụng cụ phải rửa sạch, để khô.
- Cân phân tích phải được kiểm tra

3. Chuẩn bị hóa chất

- | | |
|--|--------------------------------|
| - Hóa chất tinh thể: NaOH, CuSO ₄ , Kali-Natri tartrat, Fe ₂ (SO ₄) ₃ , AgNO ₃ | |
| - Hóa chất đậm đặc: HCl, H ₂ SO ₄ | - Ống chuẩn: KMnO ₄ |

4. Thực hiện pha chế hóa chất

- Chuẩn bị hóa chất: đúng chủng loại, đúng nồng độ
- Chuẩn bị dụng cụ: đầy đủ, đúng chủng loại, sạch (được tráng rửa sạch bằng nước sạch → tráng bằng nước cất 2-3 lần → tráng bằng hóa chất), khô, ráo nước.

- Cân (hút) hóa chất:
 - + Chính xác, cẩn thận, không để rơi vãi hóa chất
 - + Đối với hóa chất tinh thể: dùng cốc thủy tinh 50ml để đựng hóa chất và cân trên cân phân tích điện tử.
 - + Đối với hóa chất đậm đặc: dùng pipet hút hóa chất.
- Pha loãng (hòa tan) hóa chất
 - + Dung môi: nước cất, cồn,...
 - + Đối với hóa chất tinh thể: cho hóa chất đã cân vào cốc thủy tinh 50ml → Cho nước cất (nóng hoặc lạnh tùy theo loại hóa chất) vào hòa tan, dùng đũa thủy tinh khuấy đều (nếu không tan có thể đun nóng sơ bộ cho tan) → Chuyển dung dịch đã hòa tan vào bình định mức → Rửa sạch cốc bằng nước cất từ 2 – 3 lần → Chuyển toàn bộ lượng nước rửa vào bình định mức (**chú ý**: lượng nước hòa tan và rửa không được vượt quá thể tích pha theo quy định).
 - + Đối với hóa chất dung dịch đậm đặc: hút hóa chất bằng pipet đúng với thể tích yêu cầu → Chuyển hóa chất bình định mức → Cho thêm nước cất vào bình định mức (**chú ý**: lượng nước không được vượt quá thể tích pha theo quy định; Nếu pha acid đậm đặc thì trong bình định mức nên có sẵn một lượng nước cất nhất định (*pha acid vào nước*) tránh trường hợp hóa chất văng lên gây nguy hiểm).
 - + Sau khi pha xong, hóa chất đồng nhất, tan hoàn toàn trong dung môi.
- Để nguội đến nhiệt độ phòng: dung dịch trong bình định mức phải ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành định mức đến thể tích quy định.
 - Định mức đúng vạch:
 - + Đặt mắt ngang vạch để quan sát
 - + Dùng pipet nhỏ giọt nhỏ nước cất đến vạch (đáy mức dung dịch ngang với tầm vạch)
 - + Định mức đúng vạch thể tích yêu cầu.
 - Lắc đều, đồng nhất:
 - + Đối với bình định mức thể tích nhỏ (dưới 200ml): dùng tay phải nắm chặt cổ bình định mức và bịt kín nút, xóc ngược bình vài lần để trộn đều.
 - + Đối với bình định mức thể tích lớn (dưới 500ml, 1000ml): dùng tay phải nắm chặt cổ bình định mức và bịt kín nút, tay trái đỡ đáy bình và xóc ngược bình vài lần để trộn đều.
 - Chuyển vào dụng cụ chứa:
 - + Bình đựng hóa chất: sạch, khô, được tráng rửa nước cất và hóa chất vừa pha 2-3 lần.
 - + Ghi nhãn (tên hóa chất, nồng độ, ngày pha)

5. Kiểm tra nồng độ hóa chất pha chế

Dùng dung dịch chất khởi đầu để chuẩn lại nồng độ đã pha sau đó hiệu chỉnh lại nồng độ dung dịch vừa pha

6. Bảo quản, sử dụng, thanh lý hóa chất pha chế

- Dung dịch vừa pha được bảo quản, sử dụng theo quy định của từng loại hóa chất.
- Dung dịch vừa pha được thanh lý theo quy định.

B. Bài tập thực hành pha chế hóa chất

Tính toán và tiến hành pha các hóa chất sau theo nhóm với thể tích yêu cầu là 100ml/nhóm:

1) Dd Fehling A (phương pháp Bertrand): 40g CuSO₄/1000ml

$m_{\text{CuSO}_4} = \dots\dots\dots$

2) Dd Fehling B (phương pháp Bertrand):

200g Kali-Natri tartrat + 460ml nước cất nóng và 150g NaOH + 250ml nước cất /1000ml

Hòa tan muối kali natri Tartrat trong nước cất nóng.

Hòa tan NaOH trong nước cất.

Trộn hai dung dịch với nhau và cho thêm nước cất vừa đủ 1000ml.

$m_{\text{K-Na Tartrat}} = \dots\dots\dots$ $m_{\text{NaOH}} = \dots\dots\dots$

3) Dd Fehling A (phương pháp Metylen xanh): 69,5g CuSO₄/1000ml

$m_{\text{CuSO}_4} = \dots\dots\dots$

4) Dd Fehling B (phương pháp Bertrand):

346g Kali-Natri tartrat + 460ml nước cất nóng và 100g NaOH + 250ml nước cất /1000ml

Hòa tan muối kali natri Tartrat trong nước cất nóng.

5) Dd NaOH 1N: 40g NaOH/1000ml

$m_{\text{NaOH}} = \dots\dots\dots$

6) Dd NaOH 0,1N: pha từ dung dịch NaOH 1N

$V_{\text{NaOH}} = \dots\dots\dots$

7) Dd H₂SO₄ 0,1N: pha từ.....ml dung dịch đậm đặc H₂SO₄ (95-98%, d=1,84g/ml)

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \dots\dots\dots$

8) Dd KMnO₄ 0,1N: pha từ ống chuẩn

9) Dd Fe₂(SO₄)₃ trong môi trường acid: 50g Fe₂(SO₄)₃ và 200ml H₂SO₄ đậm đặc/1000ml

Hòa tan Fe₂(SO₄)₃ trong một lượng nước vừa đủ để tan. Thêm vào từ từ, vừa cho vừa lắc đều 200ml H₂SO₄ đậm đặc, để nguội và thêm vào cho đủ 1000ml nước.

Dung dịch này không được chứa FeO hoặc FeSO₄, do đó cần oxy hóa FeSO₄ bằng cách nhỏ dung dịch KMnO₄ 0,1N, dung dịch phenolphthalein 1% trong cồn 90°.

$m_{\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3} = \dots\dots\dots$

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \dots\dots\dots$

8) Dd AgNO₃ 0,1N: 17g AgNO₃/1000ml

$m_{\text{AgNO}_3} = \dots\dots\dots$

9) Dd HCl 0,1N: pha từ ml dung dịch đậm đặc (HCl 37%)

$V_{\text{HCl}} = \dots\dots\dots$

C. Ghi nhớ:

- Tính được lượng hóa chất để pha chế theo công thức
- Quy trình pha chế, kiểm tra nồng độ hóa chất.

BÀI 4: VẬN HÀNH MÁY VÀ THIẾT BỊ THÔNG DỤNG DÙNG TRONG PHÂN TÍCH

Mã bài: 04

Giới thiệu:

Trong phân tích chất lượng thực phẩm, việc vận hành/sử dụng được các máy và thiết bị thông dụng đúng quy trình kéo dài tuổi thọ và có kết quả chính xác trong phân tích là rất quan trọng và cần thiết.

Trong bài này hình thành kỹ năng cho người học cách vận hành máy, thiết bị, kỹ năng bảo dưỡng, vệ sinh thiết bị thường dùng trong phân tích.



Mục tiêu:

- Trình bày được kỹ thuật vận hành, phạm vi ứng dụng của các máy và thiết bị thông dụng dùng trong phân tích;
- Vận hành/sử dụng được các máy và thiết bị thông dụng dùng trong phân tích;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành, thực tập;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành, thực tập.

A. Nội dung:

1. VẬN HÀNH CÂN

1.1. Thiết bị, dụng cụ:

Cân kỹ thuật điện tử, cân phân tích điện tử Ohaus



Hình 4.1. Cân kỹ thuật điện tử



Hình 4.2. Cân phân tích điện tử

1.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Muối ăn
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tinh thể

1.3. Các bước tiến hành:

1.3.1. Kiểm tra cân

- Kiểm tra độ thẳng bằng của cân thông qua bọt nước: Bọt nước ở giữa vòng tròn giới hạn
- Kiểm tra các cửa sổ cân (nếu có): các cửa sổ cân phải được đóng
- Kiểm tra dây điện nguồn: Phải được khô ráo, Không bị hở lộ kim loại bên trong, không bị mòn.

1.3.2. Khởi động cân

- Nối cân vào nguồn điện
- Bật công tắc nguồn
- Ổn định cân: chờ màn hiển thị chỉ “0.0000g” hoặc “0.00g” tùy loại cân và có dấu (*) hoặc dấu (°) bên cạnh
- Chọn đơn vị cần cân (nếu cần):
 - + Giữ phím Unit menu cỡ 30s để xuất hiện chữ Cal
 - + Ấn No đến khi xuất hiện chữ Unit trên màn hình
 - + Ấn Yes để chuyển vào chế độ chọn đơn vị, đơn vị đầu tiên là gam. Giả sử chọn đơn vị là mg, ấn No để chuyển sang đơn vị mg và ấn Yes để chọn.

1.3.3. Cân bì

- Cho cốc (đĩa) cần cân vào bàn cân
- Đóng các cửa sổ của cân
- Đọc và ghi kết quả cân (nếu cần): chờ đến khi màn hiển thị kết quả cân phải dừng lại và hiện ký hiệu (* hay °) bên trái của số liệu cân
- Đưa màn hình về 0.0000 (trừ bì) (bằng cách nhấn vào nút O/T)

1.3.4. Cân mẫu vật

- Đặt mẫu vật vào cốc (đĩa) cân: Cho chất cần cân vào đến khối lượng yêu cầu. Chú ý: Cho mẫu vật nhẹ nhàng vào đĩa có ở bàn cân, không được rơi vãi mẫu vật ở bàn cân.
- Đóng các cửa sổ của cân
- Đọc và ghi kết quả cân (nếu cần): chờ đến khi màn hiển thị kết quả cân phải dừng lại và hiện ký hiệu (* hay °) bên trái của số liệu cân

1.3.5. Kết thúc quá trình cân

- Lấy cốc (đĩa) chứa mẫu vật ra khỏi cân
- Đóng cửa sổ của cân (nếu có)
- Tắt cân (bằng cách nhấn và giữ nút YES đến khi màn hình xuất hiện chữ OFF)
- Rút dây điện nguồn của cân ra khỏi nguồn điện

1.3.6. Vệ sinh, bảo dưỡng cân

- Vệ sinh mặt bàn cân: Lấy mặt bàn cân ra khỏi đế đỡ mặt bàn cân. Dùng khăn mềm lau sạch mặt bàn cân.
- Vệ sinh khu vực đế đỡ mặt bàn cân: Dùng khăn mềm thấm nước vắt khô, lau sạch khu vực đế đỡ mặt bàn cân.

1.3.7. Thực hành cân

- Cân 25g muối ăn bằng cân kỹ thuật điện tử

- Cân 4g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ bằng cân phân tích điện tử

1.4. Nguyên nhân gây sai số khi cân và cách khắc phục

2. VẬN HÀNH MÁY ĐO pH

2.1. Thiết bị, dụng cụ:

Máy đo pH kèm theo điện cực



Hình 4.3. Máy đo pH



Hình 4.4. Dung dịch chuẩn

2.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- NaOH 0,1N; 0,01N; HCl 0,1N; 0,01N
- Nước cất
- Giấy mềm
- Dung dịch chuẩn pH7, pH4, pH10

2.3. Các bước tiến hành:

2.3.1. Chuẩn bị máy đo pH

- Gắn điện cực vào máy đo
- Bật công tắc của máy
- Tháo điện cực ra khỏi vỏ nhựa bao đầu (có chứa dung dịch bảo quản KCl 3M)
- Rửa điện cực bằng nước cất, lau khô điện cực bằng giấy mềm hay khăn mềm
- Điều chỉnh nhiệt độ về 25°C

2.3.2. Hiệu chuẩn máy đo pH

- Hiệu chuẩn máy đo ở pH 7: Cho điện cực vào dung dịch đệm pH 7, chờ cho trị số ở mặt hiển thị ổn định, chỉnh núm pH7 sao cho số đọc về trị số 7.00. Lấy điện cực ra và rửa bằng nước cất. Thấm bớt nước đầu điện cực bằng giấy thấm.

- Hiệu chuẩn máy đo ở pH 4 hoặc 10: Cho điện cực vào dung dịch đệm pH X (pH 4 hay pH10). Nếu số đọc không phải là 4.00 (hay 10.00), dùng vít nhỏ chỉnh núm pH X sao cho số hiển thị trên máy đo là 4.00 (hay 10.00). Lấy điện cực ra và rửa điện cực bằng nước cất. Thấm bớt nước đầu điện cực.

2.3.3. Đo pH của dung dịch mẫu

Nhúng ngập đầu điện cực vào dung dịch cần đo pH. chờ đến trị số mặt hiển thị ổn định. Đọc trị số pH của dung dịch đo.

2.3.4. Vệ sinh máy đo pH

Máy đo pH được vệ sinh điện cực và máy đo pH:

- Vệ sinh điện cực: rửa sạch điện cực bằng nước cất (2-3 lần và lau sạch điện cực bằng giấy thấm mềm.

- Vệ sinh máy đo pH: vệ sinh sạch máy đo pH và khu vực máy đo pH bằng giấy thấm mềm hay khăn mềm đã nhúng nước vắt khô.

2.3.5. Bảo dưỡng máy đo pH

Máy đo pH được bảo quản điện cực và máy đo pH:

- Bảo quản đầu đo: Đầu đo sau khi sử dụng được rửa bằng nước cất, thấm khô bằng giấy mềm và đưa vào ngâm liên tục trong lọ nước bảo quản. Khi mở hoặc nắp lọ nước bảo quản thì một tay giữ đầu đo và nắp còn một tay vặn lọ nước. Đầu đo luôn treo thẳng đứng để nước trong lọ bảo quản không rò rỉ.

- Bảo quản máy: Kiểm tra và tắt công tắc về OFF. Giữ máy nơi khô mát, tránh để người khác hoặc trẻ nhỏ nghịch. Luôn quan sát và làm vệ sinh chốt của rắc và ổ cắm trên máy. Không để nước lọt vào đó sẽ làm oxy hóa ổ cắm và rắc rất khó lau.

- Thay pin: Bật công tắc sang ON, nếu thấy màn hình hiện chữ "LOW BAT" là điện yếu, sắp phải thay pin.

2.3.6. Thực hành đo pH của mẫu

- Đo pH của dung dịch NaOH 0,1N; 0,01N

- Đo pH của dung dịch HCl 0,1N; 0,01N

2.4. Nguyên nhân gây sai số khi đo pH của dung dịch và cách khắc phục

3. SỬ DỤNG KỨC XẠ KẾ, TỶ TRỌNG KẾ

3.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Baumé kế
- Cồn kế
- Khúc xạ kế cầm tay, khúc xạ kế Abbe



Hình 4.5. Tỷ trọng kế



Hình 4.6. Ống đong



Hình 4.7. Nhiệt kế

3.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Đường, cồn, muối ăn
- Giấy mềm

- Nước cất

3.3. Các bước tiến hành:

3.3.1. Sử dụng khúc xạ kế

- Chuẩn bị khúc xạ kế

+ Chọn khúc xạ kế: có thang đo phù hợp với nồng độ của dung dịch cần đo. Chẳng hạn: dung dịch mẫu có nồng độ chất hòa tan là 25⁰Bx thì chọn khúc xạ kế có thang đo từ 0-30⁰Bx.

+ Vệ sinh lăng kính: Mở nắp lăng kính, lau sạch lăng kính bằng nước cất, có thể dùng dung môi hữu cơ (cồn, ether). Sau đó, lau khô bằng giấy mềm hay khăn mềm.

+ Điều chỉnh thị kính (đối với máy đo thủ công): nhìn vào thị kính, quan sát và điều chỉnh đến phần rõ nét nhất.

- Chuẩn bị mẫu

Mẫu được đưa về nhiệt độ phòng đối với mẫu có nhiệt độ cao, và lọc sơ bộ qua rây (nếu mẫu có chứa các tạp chất rắn như: xơ, bã...)

- Kiểm tra khúc xạ kế với nước cất

Mở nắp lăng kính, nhỏ 1-2 giọt nước cất vào giữa lăng kính, đậy nắp lăng kính. Quan sát và đọc trị số trên thước đo. Nếu thước đo của khúc xạ kế không chỉ điểm 0 thì dùng vít điều chỉnh vít hiệu chuẩn của khúc xạ kế cho đến điểm 0.

- Đo Bx của dung dịch mẫu

Cho 1-2 giọt dung dịch mẫu vào lăng kính, dùng bông thấm nước lau sạch (1-2 lần). Cho 1-2 giọt dung dịch mẫu vào lăng kính, dung dịch phải phủ đầy lăng kính. Đậy nắp lăng kính. Quan sát và đọc chính xác trị số trên thước đo. Dùng nhiệt kế để ghi nhiệt độ của dung dịch mẫu.

- Tính kết quả

Nếu dùng khúc xạ kế để xác định hàm lượng chất hòa tan, kết quả được tính theo độ Bx:

$$Bx = Bx \text{ đọc} \pm \Delta Bx$$

(dầu + khi nhiệt độ > 20⁰C, dầu – khi nhiệt độ < 20⁰C)

ΔBx : được tìm ở bảng tra, tra theo Bx đọc và nhiệt độ.

- Vệ sinh và bảo quản khúc xạ kế

+ Vệ sinh lăng kính: Mở nắp lăng kính, dùng bông thấm nước (hoặc khăn mềm) lau sạch dung dịch mẫu. Sau đó được lau sạch bằng nước cất 2-3 lần, sau cùng lau bằng dung môi hữu cơ (cồn, ether). Lau khô bằng khăn mềm sạch. Để ráo, đậy nắp lăng kính.

+ Vệ sinh khúc xạ kế: Dùng khăn mềm lau sạch khúc xạ kế. Không được làm ướt lăng kính.

+ Bảo quản khúc xạ kế: đặt khúc xạ kế trong hộp sau khi sử dụng. Nhiệt độ bảo quản (0-40⁰C).

3.3.2. Sử dụng tỷ trọng kế

- Chuẩn bị dụng cụ

+ Tỷ trọng kế: phù hợp với phép đo. Chẳng hạn: đo nồng độ chất hòa tan thì dùng Brix kế và thang đo phải phù hợp với nồng độ của dung dịch; Đo độ cồn thì dùng cồn kế và thang đo phải phù hợp với nồng độ cồn...

+ Nhiệt kế

+ Ống đong

- Chuẩn bị mẫu

Mẫu được đưa về nhiệt độ phòng đối với mẫu có nhiệt độ cao, và lọc sơ bộ qua rây (nếu mẫu có chứa các tạp chất rắn như: xơ, bã...)

- Đo nồng độ của mẫu:

+ Tráng ống đong bằng dung dịch mẫu.

+ Cho mẫu vào gần đầy ống đong.

+ Đặt tỷ trọng kế vuông góc với mặt thoáng chất lỏng.

+ Thả từ từ tỷ trọng kế vào dung dịch, chờ cho tỷ trọng kế nổi lên ở vị trí cố định.

+ Đặt mắt ngang tầm, đọc giá trị trên thang độ tại vị trí mặt thoáng của dung dịch.

+ Dùng nhiệt kế đo nhiệt độ của dung dịch.

- Tính kết quả

+ Nếu dùng Baumé kế: cho kết quả để tính lượng chất khô trong dung dịch tính theo độ Be. Từ độ Be có thể tính sang độ Bx theo công thức:

$$Bx = 1,84^{0}Be$$

+ Nếu dùng Brix kế để xác định hàm lượng chất hòa tan:

$$Bx = Bx \text{ đọc} \pm \Delta Bx$$

(dấu + khi nhiệt độ > 20⁰C, dấu – khi nhiệt độ < 20⁰C)

ΔBx : được tìm ở bảng tra, tra theo Bx đọc và nhiệt độ.

+ Nếu dùng cồn kế để đo độ cồn:

Độ cồn sẽ được tra bảng theo độ cồn đo được và nhiệt độ.

- Vệ sinh dụng cụ và bảo quản tỷ trọng kế

+ Vệ sinh dụng cụ: vệ sinh ống đong, nhiệt kế, tỷ trọng kế sạch bằng nước thường, có thể dùng nước xà phòng (nếu cần). Sau đó, rửa lại nhiều lần bằng nước thường và tráng lại bằng nước cất. Để ráo. Đối với ống đong có thể sấy khô ở nhiệt độ 100⁰C, để nguội.

+ Bảo quản tỷ trọng kế: Tỷ trọng kế được cho vào hộp cẩn thận.

3.4. Thực hành đo nồng độ chất khô của mẫu

- Đo độ Baume của dung dịch NaCl 10%; 15%, 20%

- Đo độ cồn của mẫu cồn

- Đo Bx của dung dịch đường

3.5. Nguyên nhân gây sai số khi đo nồng độ chất khô của mẫu và cách khắc phục

4. SỬ DỤNG MÁY ĐẾM KHUẨN LẠC

4.1. Thiết bị, dụng cụ:

Máy đếm khuẩn lạc

4.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Đĩa petri VSV

4.3. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị máy

- + Chọn vị trí đặt máy.
- + Điều chỉnh kính lúp.
- + Lắp ô chia vào máy.
- *Khởi động máy*
 - + Kết nối máy với nguồn điện: cắm dây điện nguồn vào ổ cắm điện nguồn.
 - + Bật công tắc: sau máy, đèn sẽ sáng.
- *Đếm khuẩn lạc của đĩa*
 - + Đặt đĩa petri vào giá đỡ
 - + Đếm khuẩn lạc trong từng ô: Dùng bút chấm vào những khuẩn lạc quan sát qua kính lúp. Mỗi lần chấm như vậy bút sẽ phát ra tiếng kêu và tăng giá trị lên 1. Đếm tất cả các ô chia. Đọc trị số trên màn hình
 - + Đếm 2-3 lần để lấy kết quả trung bình
- *Kết thúc, vệ sinh*
 - + *Kết thúc:* Tắt công tắc nguồn, lấy đĩa petri ra khỏi máy. Rút dây điện nguồn.
 - + *Vệ sinh đĩa petri:* Lấy mẫu vật ra khỏi đĩa petri cho vào thùng chứa chất thải theo quy định. Rửa sạch đĩa petri bằng nước xà phòng, sau đó rửa sạch lại nhiều lần bằng nước máy, tráng lại nước cất. Để ráo, cho vào tủ sấy, sấy khô ở 100⁰C.
 - + *Vệ sinh máy:* Dùng khăn mềm nhúng nước vắt khô, lau sạch ô chia và máy, khu vực quanh máy.

4.4. Thực hành đếm khuẩn lạc của mẫu

- Đếm khuẩn lạc trên 2 đĩa petri

4.5. Nguyên nhân gây sai số khi đếm khuẩn lạc của mẫu và cách khắc phục

5. VẬN HÀNH MÁY SO MÀU

5.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Máy so màu UV (kèm cuvet)
- Cân phân tích
- Bình định mức 50ml, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh

5.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Đường sacccarosse
- Nước cất
- Giấy lọc

5.3. Các bước tiến hành

5.3.1. Chuẩn bị mẫu:

Cân 25g đường, pha thành 50ml dung dịch, lọc qua giấy lọc

5.3.2. Kiểm tra máy, cuvet

- *Kiểm tra ngăn chứa cuvet:* mở nắp ngăn chứa cuvet, xem có cuvet trong ngăn, nếu có phải lấy cuvet ra khỏi máy.

- *Kiểm tra dây điện nguồn, nguồn điện:* xem dây điện nguồn có bị ướt, bị mòn, bị hở lõi kim loại. Nguồn điện phải đúng với máy.

- *Chọn cuvet:* Dựa vào bước sóng cần đo để chọn cuvet, với bước sóng vùng tử ngoại phải dùng cuvet thạch anh hay cuvet silica nóng chảy. Dựa vào phương pháp thử để chọn kích thước của cuvet.

5.3.3. Khởi động máy

- Máy so màu được kết nối với nguồn điện. Để dòng điện ổn định có thể kết nối thiết bị qua ổn áp

- Bật công tắc máy, chờ ổn định đến khi màn hình chính hiển thị.

5.3.4. Cài đặt thông số

- *Chọn bước sóng:* Cài đặt bước sóng cần đo bằng cách nhấn vào phím mũi tên lên xuống để chọn bước sóng cần đo.

- *Chọn thông số đo:* Chọn thông số cần đo như: độ hấp thụ, độ truyền quang.

5.3.5. Kiểm máy với nước cất

- Cho nước cất vào cuvet, lau khô cuvet.

- Đặt cuvet vào khoang chứa cuvet của máy.

- Chỉnh máy với nước cất:

- + Dùng nút chỉnh T về 100 hiển thị trên màn hình

- + Chuyển thiết bị qua chế độ đo mật độ quang (Abs)

- + Dùng nút điều chỉnh để A về 0

5.3.6. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu

- Dùng dung dịch mẫu cần đo tráng cuvet, sau đó cho dung dịch mẫu vào cuvet đến vạch. Lau khô bên ngoài cuvet rồi cho cuvet vào khoang chứa của máy. Đóng nắp lại, đến khi màn hình hiển thị con số ổn định. Ta được giá trị A lần 1.

- Chỉnh máy trở lại bằng cuvet nước cất ở chế độ đo A.

- Sau đó đo dung dịch mẫu trở lại, đo vài lần để tính A trung bình.

5.3.7. Ngừng máy, vệ sinh máy

- *Ngừng máy:* Lấy cuvet ra khỏi máy. Tắt công tắc của máy, rút dây điện nguồn.

- *Vệ sinh cuvet:* rửa sạch cuvet, có thể ngâm cuvet vào dung dịch xà phòng (nếu cần), rửa sạch nhiều lần bằng nước thường, sau đó tráng lại bằng nước cất. Để khô ráo, có thể lau khô bằng giấy mềm (nếu cần), sau đó cất vào hộp đựng cuvet.

- *Vệ sinh máy so màu:* Dùng khăn mềm sạch nhúng nước vắt khô, lau sạch bên trong ngăn chứa cuvet. Lau sạch bên trong và bên ngoài máy. Lau sạch quanh khu vực máy so màu.

5.4. Thực hành đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu

- Đo độ hấp thụ của dung dịch đường

5.5. Nguyên nhân gây sai số khi đo độ hấp thụ của mẫu và cách khắc phục

6. VẬN HÀNH HỆ THÔNG CÁT ĐẠM

6.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Hệ thống phá mẫu

- Máy cất đậm
- Bình định mức 100ml, pipet 10ml

6.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Nước mẫu
- Nước cất
- NaOH 30%
- Giấy thử pH

6.3. Các bước tiến hành

Chuẩn bị mẫu: Lấy 10ml nước mẫu, pha thành 100ml dung dịch. Lấy 10ml dung dịch mẫu đã pha loãng cho vào ống chứa mẫu

6.3.1. Vận hành hệ thống phá mẫu

- Kiểm tra hệ thống phá mẫu: Kiểm tra nước làm lạnh, kiểm tra các đường ống của hệ thống xử lý khí độc bình thường
- Đặt ống chứa mẫu vào hệ thống phá mẫu
- Khởi động máy: Kết nối nguồn điện, bật đúng công tắc
- Cài đặt: chọn chế độ phá mẫu, cài đặt các thông số thời gian, nhiệt độ
- Thực hiện lệnh phá mẫu: ấn nút start
- Ngừng máy: Máy được ngừng khi máy báo đã kết thúc
- Kết thúc quá trình phá mẫu: lấy ra khỏi hệ thống phá mẫu sau khi làm nguội
- Vệ sinh hệ thống phá mẫu

6.3.2. Vận hành máy cất đậm

- Kiểm tra máy chưng cất đậm: Kiểm tra nước làm lạnh; các đường ống của máy cất đậm; kiểm tra các bình chứa NaOH, nước cất.
- Đặt ống chứa mẫu vào máy
- Đặt bình nón chứa dung dịch hấp thụ NH_3 vào đầu ống làm lạnh của máy
- Khởi động máy: Kết nối nguồn điện, bật đúng công tắc
- Cài đặt thông số: Các thông số (lượng kiềm, lượng nước cất, nhiệt độ, thời gian...) cài đặt phù hợp với mẫu
- Thực hiện lệnh chưng cất
- Ngừng máy: Máy được ngừng khi máy báo đã kết thúc
- Kết thúc quá trình chưng cất: rửa đầu ống làm lạnh bằng nước cất; lấy bình nón ra khỏi đầu ống làm lạnh
- Vệ sinh máy cất đậm: theo chương trình vệ sinh của máy.

6.4. Thực hành vận hành hệ thống chưng cất đậm

6.5. Nguyên nhân gây sai số khi đo độ hấp thụ của mẫu và cách khắc phục

7. VẬN HÀNH MỘT SỐ THIẾT BỊ NHIỆT

7.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Bếp cách thủy
- Tủ sấy
- Nồi hấp khử trùng

7.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- Cốc, bình tam giác, pipet, ống nghiệm

7.3. Các bước tiến hành

7.3.1. Sử dụng bếp cách thủy

- Kiểm tra bếp cách thủy: Kiểm tra vị trí đặt bếp, dây điện kết nối điện nguồn
- Cho nước vào bếp: đủ lượng nước quy định
- Kết nối nguồn điện
- Đặt dụng cụ chứa vật cần đun nóng vào bếp:
 - + Chọn dụng cụ chứa phù hợp với vật liệu cần đun nóng và kích thước phù hợp với bếp
 - + Cho vật cần đun nóng vào dụng cụ chứa: Không được vượt quá 2/3 thể tích dụng cụ chứa
- + Đặt dụng cụ chứa vào bếp
- Bật công tắc
- Cài đặt các thông số: cài đặt nhiệt độ, thời gian theo yêu cầu của vật cần đun nóng
- Thực hiện quá trình đun nóng
- Kết thúc quá trình đun nóng: Tắt bếp và rút dây nguồn sau khi sử dụng; Lấy dụng cụ chứa vật đun nóng ra khỏi bếp
- Vệ sinh bếp cách thủy: vệ sinh bề mặt bếp và xung quanh khu vực bếp; dây điện được quấn lại gọn gàng tránh ẩm ướt.

7.3.2. Vận hành tủ sấy

- Kiểm tra tủ sấy: Kiểm tra vị trí đặt tủ sấy; dây điện nguồn; giá bên trong tủ sấy.
- Kết nối điện nguồn
- Xếp vật cần sấy vào giá của tủ sấy
- Bật công tắc
- Cài đặt chế độ: nhiệt độ, thời gian theo yêu cầu của vật cần sấy
- Thực hiện quá trình sấy
- Kết thúc: Tắt công tắc, để nhiệt độ tủ sấy hạ đến 60⁰ C, mới lấy vật cần sấy ra khỏi tủ sấy.
- Vệ sinh tủ sấy: vệ sinh các giá và khu vực tủ sấy

7.3.3. Vận hành nồi hấp khử trùng

- Kiểm tra nồi hấp khử trùng: Kiểm tra vị trí đặt tủ sấy; dây điện nguồn; van xả khí
- Kết nối nguồn điện

- Chuẩn bị khử trùng:
 - + Mở nắp nồi
 - + Cho nước vào nồi hấp
 - + Đặt mẫu vào nồi hấp
 - + Đậy nắp
- Cài đặt các thông số: Chế độ khử trùng (nhiệt độ, thời gian, áp suất) được cài đặt theo yêu cầu của vật cần khử trùng
- Thực hiện quá trình khử trùng: Thường xuyên kiểm tra các thông số (áp suất, nhiệt độ, thời gian), và các van xả khí.
- Kết thúc quá trình khử trùng
 - + Mở van xả khí
 - + Tắt công tắt
 - + Chờ áp suất về 0, nhiệt độ hạ $<97^{\circ}\text{C}$ mới lấy khay chứa mẫu vật ra
- Vệ sinh và bảo dưỡng nồi khử trùng: Theo đúng hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật vận hành nồi hấp khử trùng

7.4. Thực hành

- Sử dụng bếp cách thủy
- Vận hành tủ sấy
- Vận hành nồi hấp khử trùng

B. Bài tập thực hành vận hành thiết bị

1. Cân chính xác 10,00g NaCl
2. Cân chính xác 4,0000 g NaOH
3. Đo pH của dung dịch mẫu nước quả
4. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu đường
5. Vận hành máy phá mẫu
6. Vận hành máy chưng cất đậm
7. Vận hành nồi hấp khử trùng
8. Đo độ Bx của dung dịch mẫu nước quả

C. Ghi nhớ

- Vận hành, phạm vi ứng dụng của các máy và thiết bị thông dụng dùng trong phân tích;
- Vận hành/sử dụng được các máy và thiết bị thông dụng dùng trong phân tích

BÀI 05. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ DUNG DỊCH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH THỂ TÍCH

Mã bài: 05

Giới thiệu:

Trong phân tích chất lượng thực phẩm, việc nồng độ của dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích được sử dụng khá phổ biến. Ưu điểm của phương pháp này là thao tác đơn giản, ít tốn thời gian, cho kết quả nhanh. Tuy nhiên, phương pháp này còn hạn chế là phụ thuộc vào màu của chất chỉ thị nên không xác định được đối với dung dịch đục vào sẫm màu.



Mục tiêu:

- Trình bày được nguyên tắc phương pháp phân tích thể tích;
- Nêu được trình tự các bước tiến hành xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích;
- Thực hiện thành thạo thao tác xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức tiết kiệm hóa chất, bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành.

A. Nội dung:

1. NGUYÊN TẮC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH THỂ TÍCH

1.1. Bản chất của phương pháp phân tích thể tích

1.1.1. Khái niệm

Phương pháp phân tích thể tích là phương pháp phân tích định lượng dựa vào thể tích thuốc thử đem dùng cho phản ứng để tính được hàm lượng chất cần xác định.

Thuốc thử ở đây đã biết nồng độ chính xác. Giả sử cần phân tích dung dịch chất A, ta dùng thuốc thử là dung dịch chất B đã biết nồng độ chính xác rồi cho tác dụng theo phản ứng:

$$A + B = C + D$$

Nếu xác định được thể tích chất B tác dụng vừa đủ với dung dịch chất A theo phương trình phản ứng, thì theo định luật đương lượng sẽ tìm được nồng độ dung dịch chất A.

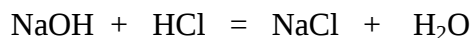
1.1.2. Bản chất của phương pháp

Bản chất của phương pháp này được minh họa bằng ví dụ sau:

Muốn xác định nồng độ của dung dịch NaOH người ta dùng thuốc thử HCl đã biết nồng độ chính xác.

Lấy một thể tích chính xác dung dịch NaOH cho vào bình tam giác và cho vào vài giọt Phenolphthalein, dung dịch trong bình tam giác có màu hồng (Phenolphthalein trong môi trường kiềm có màu hồng). Dung dịch HCl cho vào buret (ống chuẩn). Ta tiến hành như sau:

Từ buret ta nhỏ từ từ dung dịch HCl xuống bình tam giác, xảy ra phản ứng sau:

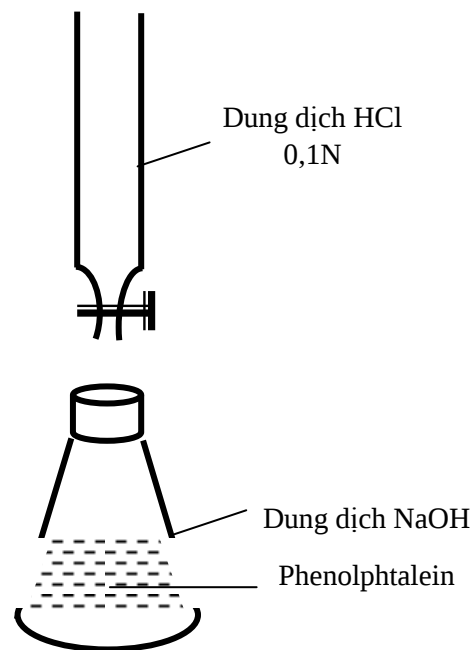


Đến khi dung dịch HCl tác dụng vừa đủ với NaOH, dung dịch trong bình tam giác chỉ có NaCl (môi trường trung tính, phenolphthalein hồng màu), dung dịch trong bình tam giác chuyển sang không màu thì khoá buret lại.

Ghi thể tích HCl đã dùng cho phản ứng.

Nồng độ NaOH tính theo công thức:

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{N_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}}{N_{\text{NaOH}}}$$



* Nhận xét

- Quá trình tiến hành xác định nồng độ của dung dịch NaOH gọi là sự định phân hay là sự chuẩn độ;
- Dung dịch NaOH cần xác định nồng độ gọi là dung dịch định phân hay dung dịch chất nghiên cứu;
- Dung dịch HCl đã biết nồng độ gọi là dung dịch chuẩn độ hay thuốc thử;
- Phenolphthalein dùng để nhận biết điểm kết thúc định phân gọi là chất chỉ thị;
- Thời điểm dung dịch đổi màu báo hiệu kết thúc định phân gọi là điểm tương đương.

1.2. Yêu cầu đối với phản ứng trong phân tích thể tích

Những phản ứng hoá học dùng trong phân tích thể tích phải thoả mãn các yêu cầu sau đây:

- Chất cần xác định phải tác dụng hoàn toàn với chất chuẩn độ theo một phản ứng hoàn toàn xác định, nghĩa là theo một hệ số tỷ lệ nhất định;
- Phản ứng xảy ra với tốc độ đủ nhanh. Đối với phản ứng xảy ra chậm phải làm tăng tốc độ phản ứng bằng cách đun nóng hoặc thêm chất xúc tác;
- Phải xác định được điểm tương đương trong quá trình định phân nghĩa là phải có chất chỉ thị thích hợp;
- Phản ứng phải chọn lọc nghĩa là không có phản ứng phụ làm sai số kết quả định phân.

1.3. Các phương pháp phân tích thể tích

Dựa vào đặc trưng của phản ứng dùng trong phân tích thể tích có các phương pháp phân tích cơ bản tương ứng sau:

- Phương pháp trung hoà
- Phương pháp Oxy hoá – khử
- Phương pháp kết tủa
- Phương pháp Complexon

2. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Fe^{2+} CÓ TRONG MUỐI MOHR BẰNG PHƯƠNG PHÁP PEMANGANAT

2.1. Sơ lược về lý thuyết

Sắt là một trong những hàm lượng không kém phần quan trọng khi phân tích trong một mẫu thực phẩm, nước....

Có rất nhiều phương pháp để xác định hàm lượng Fe^{2+} có trong dung dịch cần phân tích: Phương pháp đo quang, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, phương pháp chuẩn độ dựa trên phản ứng oxi hóa khử hay được gọi là phương pháp Pecmanganat.

Trong bài thực hành này chúng ta sử dụng phương pháp Pecmanganat để xác định hàm lượng Fe^{2+} . Dựa trên phản ứng oxi hóa khử giữa KMnO_4 và sắt(II) trong môi trường acid.



Biết thể tích KMnO_4 tiêu tốn và thể tích dung dịch Fe^{2+} đem chuẩn độ ta tính được lượng sắt(II) chứa trong dung dịch muối Mohr.

2.2. Dụng cụ, máy móc:

- Bộ chuẩn độ gồm: chân giá sắt, kẹp cồng cua, buret màu, cốc thủy tinh 250ml, phễu thủy tinh, bình tam giác 100ml.
- Bình định mức 50ml.
- Cân phân tích.

2.3. Hóa chất:

- Dung dịch KMnO_4
- Dung dịch $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,1N
- Dung dịch H_2SO_4 2N
- Muối Mohr (dd $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

2.4. Các bước tiến hành:

- Cân 0,4g muối Mo cho vào bình định mức 50ml, thêm nước cất đến vạch.
- **Chuẩn bị hóa chất trên buret:** Trên buret chứa dd KMnO_4 , đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0.
- **Cho hóa chất vào bình nón:** 10ml dung dịch muối Mo đã pha chế, 5ml dung dịch H_2SO_4 2N.
- **Chuẩn độ:** chuẩn độ dung dịch trong bình nón bằng KMnO_4 đến khi xuất hiện màu hồng bền sau 30s. Đọc thể tích KMnO_4 tiêu tốn trên buret.
- Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích KMnO_4 tiêu tốn trung bình.
- **Xác định nồng độ dung dịch KMnO_4 bằng phương pháp Pecmanganat:**
 - + Cho vào bình nón: 10ml dung dịch $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,02N, 5ml dung dịch H_2SO_4 2N.

Đun nóng hỗn hợp trong bình nón đến 70-80°C.

+ Trên buret chứa dd KMnO_4 , đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0.

+ Tiến hành chuẩn độ đến khi dung dịch trong bình nón xuất hiện màu hồng bền sau 30s, đọc thể tích tiêu tốn trên buret là Vml.

Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích KMnO_4 tiêu tốn trung bình.

+ Tính nồng độ của dung dịch KMnO_4 đã sử dụng

2.5. Tính kết quả:

- Tính hàm lượng Fe có trong muối Mohr

2.6. Nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

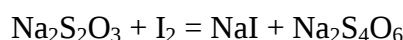
3. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Cu^{2+} CÓ TRONG DUNG DỊCH PHÂN TÍCH BẰNG PHƯƠNG PHÁP IOD

3.1. Sơ lược về lý thuyết

Đồng là một trong những hàm lượng kim loại không kém phần quan trọng khi phân tích trong một mẫu thực phẩm, nước....

Có rất nhiều phương pháp để xác định hàm lượng Cu^{2+} có trong dung dịch cần phân tích: Phương pháp đo quang, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, phương pháp chuẩn độ dựa trên phản ứng oxi hóa khử hay được gọi là phương pháp Iod.

Trong bài thực hành này chúng ta sử dụng phương pháp Iod để xác định hàm lượng Cu^{2+} . Dựa trên phản ứng oxi hóa khử giữa CuSO_4 và KI sinh ra I_2 sau đó cho I_2 sinh ra tác dụng với $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.



Biết nồng độ và thể tích $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu tốn và thể tích dung dịch Cu^{2+} đem chuẩn độ ta tính được lượng Cu(II) chứa trong dung dịch phân tích.

3.2. Dụng cụ, máy móc:

- Bộ chuẩn độ gồm: chân giá sắt, kẹp càng cua, buret, cốc thủy tinh 250ml, phễu thủy tinh, bình tam giác 100ml.

- Mặt kính đồng hồ.

3.3. Hóa chất:

- Dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- Dung dịch KI 20%
- Dung dịch $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,02N
- Dung dịch H_2SO_4 2N
- Dung dịch Cu^{2+} cần phân tích.

3.4. Các bước tiến hành:

- **Chuẩn bị hóa chất trên buret:** Trên buret chứa dd $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0

- **Cho hóa chất vào bình nón:** 10ml dung dịch phân tích, 5ml dung dịch KI 20%. Đậy kín miệng bằng mặt kính đồng hồ, để chỗ tối 5 phút. Sau đó lấy ra tráng mặt kính bằng nước cất, cho nước tráng vào bình nón.

- **Chuẩn độ:** chuẩn độ dung dịch trong bình nón bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ đến khi dung dịch có màu vàng rơm thì thêm vài giọt chỉ thị hồ tinh bột, dung dịch có màu xanh. Tiếp tục chuẩn độ đến khi dung dịch mất màu xanh thì kết thúc chuẩn độ, đọc thể tích tiêu tốn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ trên buret.

Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu tốn trung bình.

- Xác định nồng độ dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bằng phương pháp Iod:

- + Trên buret chứa dd $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0
- + Cho vào bình nón: 10ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,02N, 5ml dung dịch H_2SO_4 2N, 5ml dung dịch KI 20%. Đậy kín miệng bằng mặt kính đồng hồ, để chỗ tối 5 phút. Sau đó lấy ra tráng mặt kính bằng nước cất, cho nước tráng vào bình nón.
- + Tiến hành chuẩn độ đến khi dung dịch ở trong bình nón có màu vàng rom thì thêm vào đó vài giọt chỉ thị hồ tinh bột, dung dịch có màu xanh. Tiếp tục chuẩn độ đến khi dung dịch mất màu xanh thì kết thúc chuẩn độ, đọc thể tích $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu tốn
- Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu tốn trung bình.
- + Tính nồng độ đương lượng gam của dd $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ đã sử dụng

3.5. Tính kết quả: Tính độ chuẩn của dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ theo Cu. Từ đó tính hàm lượng Cu có trong mẫu phân tích.

3.6. Nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

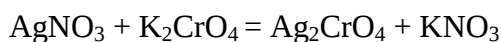
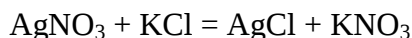
4. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Cl^- TRONG DUNG DỊCH PHÂN TÍCH BẰNG PHƯƠNG PHÁP MOHR

4.1. Sơ lược về lý thuyết

Cl^- là một trong những anion kim loại không kém phần quan trọng khi phân tích trong một mẫu thực phẩm, nước....

Có rất nhiều phương pháp để xác định hàm lượng Cl^- có trong dung dịch cần phân tích: Phương pháp đo quang, phương pháp đo độ đục, phương pháp chuẩn độ dựa trên phản ứng kết tủa hay được gọi là phương pháp Mohr.

Trong bài thực hành này chúng ta sử dụng phương pháp Mohr để xác định hàm lượng Cl^- . Dựa trên phản ứng oxi hóa khử giữa AgNO_3 và dung dịch muối halogenua với chỉ thị K_2CrO_4 .



Quá trình định phân kết thúc khi xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch do 1 giọt dung dịch AgNO_3 phản ứng với K_2CrO_4 tạo ra kết tủa Ag_2CrO_4 đỏ gạch.

4.2. Dụng cụ, máy móc:

- Bộ chuẩn độ gồm: chân giá sắt, kẹp cồng cua, buret màu, cốc thủy tinh 250ml, phễu thủy tinh, bình tam giác 100ml.
- pipet 50 ml.

4.3. Hóa chất:

- Dung dịch KCl 0,01N
- Dung dịch AgNO_3
- Chỉ thị K_2CrO_4 5%
- Dung dịch NaHCO_3 , giấy đo pH
- Dung dịch phân tích.

4.4. Các bước tiến hành:

- **Chuẩn bị hóa chất trên buret:** Trên buret chứa dd AgNO_3 , đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0

- **Cho hóa chất vào bình nón:** 10ml dung dịch phân tích, kiểm tra pH bằng giấy đo pH (nếu cần, dùng dung dịch NaHCO_3 để điều chỉnh đến pH thích hợp), thêm 5 giọt chỉ thị K_2CrO_4 5%.

- **Chuẩn độ:** chuẩn độ dung dịch trong bình nón đến khi xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch. Đọc thể tích dung dịch AgNO_3 tiêu tốn trên buret.

Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích dung dịch AgNO_3 tiêu tốn trung bình.

- **Xác định nồng độ dung dịch AgNO_3 bằng phương pháp Mohr**

+ Trên buret chứa dd AgNO_3 , đuổi hết bọt khí và điều chỉnh đến vạch 0

+ Cho vào bình nón: 10ml dung dịch KCl 0,01N, 5 giọt chỉ thị K_2CrO_4 5%

+ Tiến hành chuẩn độ đến khi dung dịch ở trong bình nón xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch, đọc thể tích dung dịch AgNO_3 tiêu tốn trên buret.

Làm thí nghiệm vài lần để tính thể tích dung dịch AgNO_3 tiêu tốn trung bình.

+ Tính nồng độ đương lượng gam của dd AgNO_3 đã sử dụng

4.5. Tính kết quả: Tính hàm lượng Cl^- có trong dung dịch.

4.6. Nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

5. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ Mg^{2+} , Ca^{2+} TRONG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP COMPLEXON

5.1. Sơ lược về lý thuyết

Độ cứng là một trong những chỉ tiêu quan trọng của nước, đó là tổng hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} có chứa trong nước, nước chứa nhiều Mg^{2+} có vị đắng. Độ cứng của nước gây ra bởi sự có mặt của các muối Ca và Mg trong nước. Độ cứng của nước được gọi là tạm thời khi có mặt muối cacbonat hoặc bicacbonat Ca , Mg . Loại nước này khi đun sôi sẽ tạo ra các kết tủa CaCO_3 hoặc MgCO_3 . Độ cứng vĩnh cửu của nước do các loại muối sunfat hoặc clorua Ca , Mg tạo ra. Độ cứng vĩnh cửu của nước thường rất khó xử lý và tạo ra nhiều hậu quả kinh tế cho việc sử dụng chúng. Độ cứng toàn phần bao gồm cả hai độ cứng nói trên.

Độ cứng của nước được xác định bằng phương pháp chuẩn độ hoặc tính toán theo hàm lượng Ca , Mg trong nước:

Trong bài thực hành này chúng ta sử dụng phương pháp Complexon dựa trên phản ứng tạo phức giữa Mg^{2+} , Ca^{2+} kết hợp với chỉ thị $\text{EBT}(\text{HInd}^{2-})$ tạo thành phức chất kém bền có màu đỏ nho MgInd^- . Dùng dung dịch EDTA để phá vỡ phức MgInd^- để tạo ra phức mới bền hơn đó là phức Na_2MgY và hoàn nguyên lại chỉ thị HInd^{2-}



(Xanh) (Đỏ nho)



(EDTA) (đỏ nho) (xanh)

Quá trình định phân kết thúc khi dung dịch chuyển từ màu đỏ nho sang màu xanh, phản ứng xảy ra trong môi trường $\text{pH}=10$.

5.2. Xác định độ cứng toàn phần

5.2.1. Dụng cụ, máy móc

Bộ chuẩn độ gồm: chân giá sắt, kẹp cồng cua, buret, cốc thủy tinh 250ml, phễu thủy tinh, bình tam giác 100ml.

5.2.2. Hóa chất

- Chất chuẩn EDTA 0,01N
- Chỉ thị ETOO (EBT)
- Dung dịch đệm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$
- Nước cất

5.2.3. Các bước tiến hành

- **Cho hóa chất vào bình nón:** 50ml nước cần phân tích + 5ml dung dịch đệm + vài giọt chỉ thị ETOO

- **Chuẩn bị hóa chất trên buret:** Trên buret chứa EDTA 0,01N, đuổi bọt khí, chỉnh về vạch 0.

- **Chuẩn độ:** Chuẩn độ dung dịch trong bình nón bằng EDTA 0,01N cho đến khi dung dịch chuyển từ màu đỏ nho xang màu xanh biếc. Đọc thể tích EDTA 0,01N tiêu tốn trên buret.

Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích EDTA 0,01N tiêu tốn trung bình.

5.2.4. Tính kết quả

5.2.5. Nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

5.3. Xác định độ cứng Calci

5.3.1. Dụng cụ, máy móc

Bộ chuẩn độ gồm: chân giá sắt, kẹp cồng cua, buret, cốc thủy tinh 250ml, phễu thủy tinh, bình tam giác 100ml.

5.3.2. Hóa chất

- Chất chuẩn EDTA 0,01N
- Chỉ thị muretxit 1% trong NaCl
- Dung dịch đệm NaOH 2N
- Nước cất

5.3.3. Các bước tiến hành

- **Cho hóa chất vào bình nón:** 50ml nước cần phân tích + 5ml dung dịch đệm + một ít chỉ thị muretxit tinh thể

- **Chuẩn bị hóa chất trên buret:** Trên buret chứa EDTA 0,01N đuổi bọt khí, chỉnh về vạch 0.

- **Chuẩn độ:** Chuẩn độ dung dịch trong bình nón bằng EDTA 0,01N cho đến khi dung dịch chuyển từ màu đỏ hồng chuyển sang màu tím. Đọc thể tích EDTA 0,01N tiêu tốn trên buret.

Làm thí nghiệm 2-3 lần để tính thể tích EDTA 0,01N tiêu tốn trung bình.

5.3.4. Tính kết quả

5.3.5. Nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

B. Câu hỏi và bài tập thực hành

1. Nêu nguyên tắc của phương pháp phân tích thể tích

2. Xác định nồng độ Fe^{2+} của dung dịch mẫu cho trước
3. Xác định nồng độ Cu^{2+} của dung dịch mẫu
4. Xác định nồng độ Cl^- của dung dịch mẫu
5. Xác định nồng độ Mg^{2+} , Ca^{2+} của dung dịch mẫu nước

C. Ghi nhớ

- Nguyên tắc phương pháp phân tích thể tích;
- Trình tự các bước tiến hành xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích;
- Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích.

BÀI 06. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ DUNG DỊCH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH CÔNG CỤ

Mã bài: 06

Giới thiệu:

Trong phân tích chất lượng thực phẩm, việc nồng độ của dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ ngày càng được sử dụng rộng rãi cùng với sự tiến bộ của khoa học. Ưu điểm của phương pháp này là cho kết quả nhanh, không phụ thuộc vào màu của chất chỉ thị nên có thể xác định được đối với dung dịch đục vào sẫm màu. Tuy nhiên phương pháp này còn hạn chế là các thiết bị khá đắt tiền.



Mục tiêu:

- Trình bày được nguyên tắc phương pháp phân tích công cụ;
- Nêu được trình tự các bước tiến hành xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ;
- Thực hiện thành thạo thao tác xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức tiết kiệm hóa chất, bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành.

A. Nội dung:

1. NGUYÊN TẮC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH CÔNG CỤ

1.1. Phương pháp chuẩn độ điện thế

1.1.1. Nội dung của phương pháp

Phương pháp chuẩn độ điện thế là phương pháp phân tích điện hoá dựa vào sự biến thiên thế của điện cực nhúng vào dung dịch phản ứng trong quá trình định phân.

Cũng có thể xem phương pháp này cũng là phương pháp phân tích thể tích vì ở đây cũng căn cứ vào sự đo chính xác thể tích thuốc thử đã dùng để tác dụng vừa hết với chất cần chuẩn từ đó suy ra nồng độ chất cần phân tích. Giả sử khi nhúng 1 điện cực kim loại vào dung dịch ion kim loại cùng tên có nồng độ $[Me^{n+}]$ thì lúc đó điện cực sẽ có 1 thế xác định. Ví dụ: nhúng điện cực Ag vào dung dịch Ag^+ .

Thế điện cực được tính theo phương trình Nec:

$$E = E^0 + 0,059 / n \lg [Me^{n+}]$$

Theo phương trình này khi $[Me^{n+}]$ thay đổi thì thế E cũng thay đổi. Bởi vậy trong quá trình định phân (ví dụ: định phân Ag^+ theo phương pháp kết tủa) ở gần điểm tương đương nồng độ $[Me^{n+}]$ thay đổi đột ngột sẽ dẫn đến sự thay đổi đột ngột điện thế E – do đó căn cứ vào sự biến thiên điện thế E ta có thể xác định điểm tương đương của phép định phân.

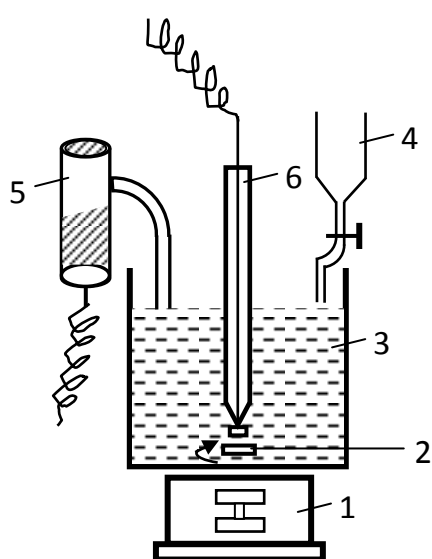
Để đo thế của điện cực chỉ thị ta làm như sau:

Ghép điện cực chỉ thị và điện cực so sánh thành 1 pin, ta đo sức điện động của pin đó. Trong thời gian ta đo thế ta giữ cho cường độ dòng khá thấp (từ $10^{-6} - 10^{-4}$ A) đi qua bình phản ứng. Khi cường độ dòng nhỏ thì đặc tính của bình điện phân không đổi. Ta có:

$$E_{pin} = E_{ct} - E_{ss} \quad \text{nếu} \quad E_{ct} > E_{ss}$$

$$E_{pin} = E_{ss} - E_{ct} \quad \text{nếu} \quad E_{ct} < E_{ss}$$

Từ E_{pin} đo được, và E_{ss} đã biết sẽ tính được E_{ct} từ đó sẽ tính được nồng độ của chất cần xác định.



1. Máy khuấy từ
2. Miếng kim loại khuấy
3. Bình chuẩn độ điện thế
4. Buret
5. Điện cực so sánh
6. Điện cực chỉ thị

Phương pháp chuẩn độ điện thế có các ưu điểm sau:

- + Nhạy hơn các phương pháp chuẩn độ thường, tránh được chủ quan do mắt gây ra;
- + Có thể xác định được nồng độ các ion trong các dung dịch đục, sẫm màu và thậm chí trong dung dịch có độ nhớt cao, đối với dung dịch không thể sử dụng chất chỉ thị;
- + Xác định các chất trong hỗn hợp không cần tách;
- + Xác định nhanh, thiết bị đơn giản, độ chính xác cao (sai số 0,1%).

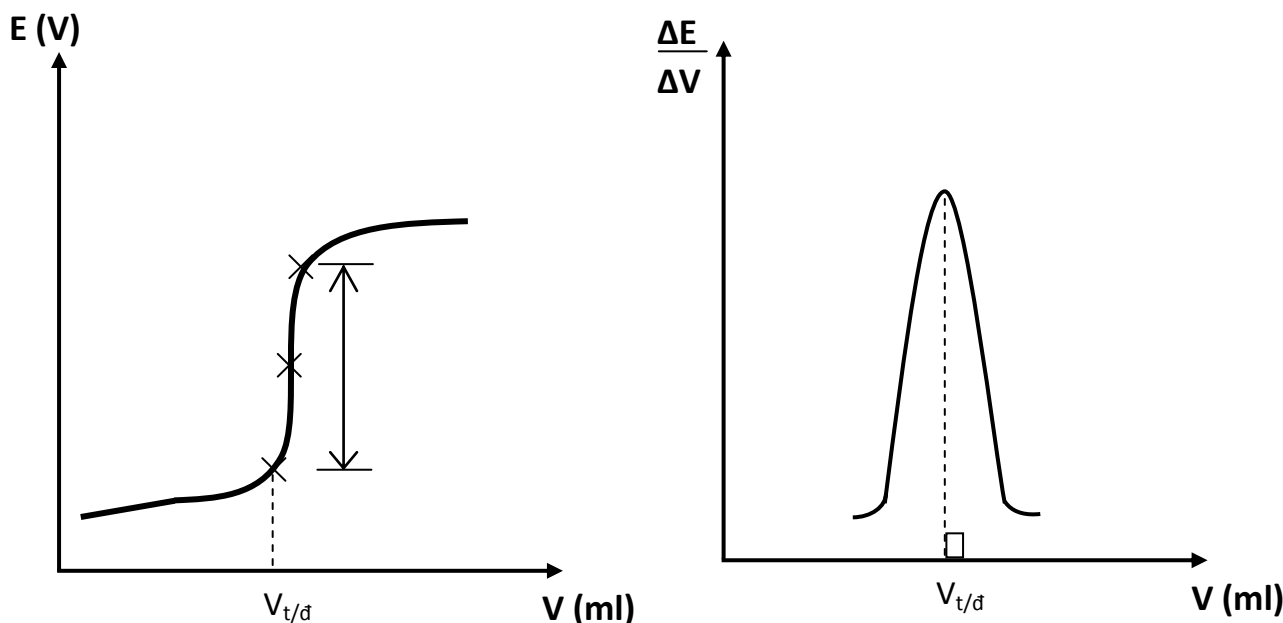
1.1.2. Đường chuẩn độ điện thế, cách xác định điểm tương đương theo thế của điện cực chỉ thị

a. Yêu cầu của phương pháp chuẩn độ điện thế

- Các phản ứng ion phải xảy ra đủ nhanh, khi tốc độ phản ứng chậm việc đun nóng và cho thêm chất xúc tác thường cho ta những kết quả tốt;
- Các phản ứng phải xảy ra hợp thức. Nếu là kết tủa tạo thành có thành phần phức tạp và không xác định thì ta tránh dùng hoặc thay đổi điều kiện để kết tủa có thành phần xác định;
- Phản ứng phải xảy ra theo 1 chiều xác định. Trong quá trình oxy hoá – khử thường có các sản phẩm phụ nên ta phải tiến hành chuẩn độ trong những điều kiện không có các phản ứng phụ ấy;
- Phản ứng phải xảy ra hoàn toàn, nếu là kết tủa phải có tích số tan bé, là phản ứng oxy hoá – khử phải có ΔE^0 lớn;
- Đối với phản ứng định dùng phải tìm được điện cực chỉ thị đặc trưng. Điều kiện này phần nào hạn chế việc chuẩn độ điện thế.

b. Cách xác định điểm tương đương

Ta có thể dựa vào việc đo thế của điện cực chỉ thị để xác định điểm tương đương theo 2 phương pháp sau:



- Phương pháp đường chuẩn độ điện thế:

Trong phương pháp phân tích thể tích đã nghiên cứu, trên đường định phân, ở gần điểm tương đương có bước nhảy thì tương ứng với đường chuẩn độ điện thế: điện thế $E (V)$ ở trục tung và $V(ml)$ thuộc trục hoành cũng có bước nhảy thế ở gần điểm tương đương. Vậy căn cứ vào bước nhảy thế ta có thể xác định được điểm tương đương (Hình vẽ)

- Phương pháp vi sai:

Nếu ta biểu diễn trên trục tung: $\Delta E / \Delta V (mV / 0,1ml)$ và trên trục hoành: $V(ml)$ thuộc trục thêm vào.

Khi $\Delta E / \Delta V$ cực đại thì thời điểm đó trùng với điểm tương đương và ứng với $V(ml)$ thuộc trục cần thiết để định phân (hình vẽ).

1.2. Phương pháp so màu

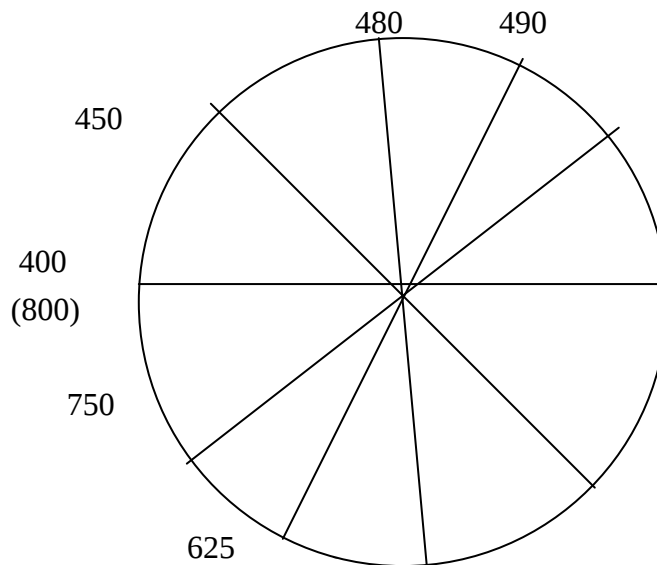
1.2.1. Nội dung của phương pháp

Muốn xác định nồng độ của cấu tử X nào đó, ta chuyển nó thành hợp chất có khả năng hấp thụ ánh sáng rồi đo sự hấp thụ ánh sáng của nó và suy ra hàm lượng chất cần xác định C_X .

Ưu điểm của phương pháp này nhanh, có độ nhạy cao, có thể xác định được nồng độ các chất $10^{-6} g$.

1.2.2. Định luật cơ bản về sự hấp thụ ánh sáng (Định luật Lambert – Bie)

Khi chiếu một dòng sáng qua dung dịch chất hấp thụ ánh sáng thì chất đó chỉ hấp thụ chọn lọc một số tia tùy theo màu sắc của chất. Giữa màu sắc của chất và khả năng hấp thụ các tia sáng của nó có liên quan với nhau; sự liên quan đó được biểu diễn qua giản đồ màu sau:



Giản đồ màu

Ví dụ: vật có màu tím thì hấp phụ các tia sáng lục ánh vàng (có bước sóng 560 – 575 nm) và ngược lại vật có màu lục ánh vàng thì hấp thụ các tia tím (có 400 – 450 nm). Trong các bảng màu đối diện nhau là màu bù nhau. Tổ hợp 2 màu bù nhau tạo nên màu gần trắng.

Nếu chiếu một chùm sáng đơn sắc có cường độ I_0 qua một dung dịch màu có bề dày là $b(\text{cm})$ và nồng độ $C(\text{mol/l})$; sau khi ra khỏi dung dịch nó bị hấp thụ mất một phần nên cường độ còn lại là I_t ($I_t < I_0$) thì:

$$I_t / I_0 = 10^{-\epsilon b C}$$

Tỷ số I_t / I_0 được đặc trưng cho độ truyền qua của ánh sáng khi đi qua dung dịch và được gọi là độ truyền quang, ký hiệu: T

$$T = I_t / I_0 = 10^{-\epsilon b C}$$

Trong đó: ϵ : là hệ số, nó đặc trưng cho bản chất của chất hấp thụ ánh sáng và bước sóng của ánh sáng đơn sắc chiếu vào dung dịch, được gọi là hệ số tắt phân tử gam (hay còn gọi là hệ số hấp thụ phân tử gam).

Đại lượng T không thuận tiện cho việc biểu diễn qua C , để tiện cho việc tính toán, trong phân người ta chuyển thành:

$$-\lg T = -\lg(I_t / I_0) = -\lg 10^{-\epsilon b C} = \epsilon b C = A$$

$$A = \epsilon b C$$

A gọi là mật độ quang, phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ C của chất phân tích

A và T là 2 đại lượng không có thứ nguyên và có liên quan với nhau qua biểu thức:
 $A = -\lg T$

T có giá trị từ $1 \rightarrow 0$ (hay 100% - 0 %)

A có giá trị từ $0 \rightarrow \infty$

Ta có thể tính được giá trị của A qua T và ngược lại.

Ví dụ: giả sử dung dịch có nồng độ C đo với cuvet có chiều dày $b(\text{cm})$ hấp thụ mất 50% ánh sáng ($T = I_t / I_0 = 50 / 100$)

$$A = -\lg T = -\lg(50 / 100) = 0,3$$

2. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ DUNG DỊCH ACID BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐIỆN THẾ

2.1. Sơ lược về lý thuyết

Chuẩn độ điện thế là một trong những phương pháp chuẩn độ dựa vào bước nhảy điện thế để tìm điểm tương đương, phương pháp này không cần dựa vào sự thay đổi màu của chất chỉ thị và có ưu điểm rất lớn trong việc ứng dụng phân tích xác định hàm lượng acid đối với những mẫu phân tích có màu.

2.2. Dụng cụ, máy móc:

- Máy đo pH, cốc chứa
- Bộ chuẩn độ
- Cốc thủy tinh 250ml
- Phễu thủy tinh
- Pipet
- Giấy mềm

2.3. Hóa chất

- Dung dịch HCl cần xác định nồng độ
- Dung dịch chuẩn NaOH 0,1N
- Nước cất

2.4. Các bước tiến hành:

- **Cho hóa chất vào cốc chứa:** 10 ml dung dịch HCl + một ít nước cất (đảm bảo dung dịch ngập điện cực)
- **Chuẩn bị máy đo pH:** theo đúng hướng dẫn sử dụng
- **Đo pH (E) trong quá trình chuẩn độ:** Cho vào cốc chứa 1ml dung dịch chuẩn NaOH 0,1N; lắc đều, nhúng điện cực vào cốc chứa, đo pH (E) của dung dịch. Tiếp tục cho 1ml NaOH 0,1N, lắc đều và đo pH sau mỗi lần thêm NaOH (khoảng 15 lần).
- **Vẽ đường định phân:** biểu diễn sự thay đổi pH (E) của dung dịch theo thể tích NaOH 0,1N tiêu tốn.

2.5. Tính kết quả

- Dựa vào đồ thị xác định pH (E) bước nhảy, điểm tương đương và thể tích NOH tiêu tốn
- Tính C_N của dung dịch HCl

2.6. Nguyên nhân sai số và cách khắc phục

3. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ GLUCOSE BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO MÀU

3.1. Sơ lược về lý thuyết

Đường có trong các mặt hàng thực phẩm dưới các dạng khác nhau và với các hàm lượng cũng khác nhau. Khi phân tích hàm lượng đường trong thực phẩm người ta phân thành các loại đường sau: Đường khử và đường không khử. Đường khử là đường có chứa nhóm $-CHO$, $-C=O$ hay OH (Glucose, fructose, mantose, lactose....)

Có nhiều phương pháp để xác định hàm lượng đường khử: Phương pháp Bertrand, phương pháp xanh metylen, phương pháp so màu...

Trong bài thực hành này ta sẽ sử dụng phương pháp so màu để xác định hàm lượng đường glucose.

3.2. Dụng cụ, máy móc:

- Cân phân tích
- Máy so màu, 02 cuvet
- Bếp điện
- Bình định mức 50ml
- Cốc thủy tinh 100 ml
- Pipet 1ml, 2ml, 5ml
- Giấy mềm

3.3. Hóa chất

- Dung dịch glucose tiêu chuẩn 0,2mg/ml
- Dung dịch Kaliferryxiannua $K_3Fe(CN)_6$ 10g/l
- Dung dịch KOH 1,25N
- Nước cất

3.4. Các bước tiến hành:

Bước 1/ Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn: Chuẩn bị 5 cốc thủy tinh 100ml, cho vào các cốc lần lượt các hóa chất như sau:

Hóa chất	$K_3Fe(CN)_6$ 10g/l (ml)	KOH 1,25N (ml)	glucose tiêu chuẩn 0,2mg/ml (ml)
Cốc 100ml			
1	1	2	2
2	1	2	2,5
3	1	2	3,0
4	1	2	3,5
5	1	2	4

Thêm nước cất vào mỗi bình để có đều thể tích là 20 ml

Đặt tất cả các bình lên bếp điện, đun đến sôi, cho sôi đúng 1 phút, làm nguội rồi cho vào bình định mức 50ml, thêm nước cất đến vạch.

Bước 2/ Đo độ hấp thụ của dãy chuẩn: đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn ở bước sóng 420nm.

- Dựng đường chuẩn: Vẽ đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ A theo nồng độ dung dịch glucose của dãy chuẩn.

Bước 3/ Tương tự như bước 1, thay dung dịch glucose bằng dung dịch mẫu đã được chế hoá (Thay dung dịch glucoza bằng 5ml dung dịch mẫu phân tích)

- Đo độ hấp thụ của mẫu

3.5. Tính kết quả

Xác định hàm lượng glucose trong mẫu dựa vào đường chuẩn

3.6. Nguyên nhân sai số và cách khắc phục

B. Câu hỏi và bài tập thực hành

1. Nguyên tắc phương pháp chuẩn độ điện thế
2. Nguyên tắc phương pháp so màu
3. Xác định nồng độ dung dịch acid bằng phương pháp chuẩn độ điện thế
4. Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp trắc quang

C. Ghi nhớ

- Nguyên tắc phương pháp phân tích công cụ;
- Các bước tiến hành xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ;
- Xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích công cụ

BÀI 07. PHÂN TÍCH CHỈ TIÊU LÝ HÓA CỦA THỰC PHẨM

Mã bài: 07

Giới thiệu:

Sản phẩm trước khi đưa ra thị trường tiêu thụ, cần đánh giá chính xác chất lượng của nó so với tiêu chuẩn quy định của ngành, của nhà nước hoặc quốc tế. Việc đánh giá này ngoài việc nhận xét bên ngoài hoặc cảm quan, nhất thiết phải được đánh giá chất lượng dinh dưỡng thông qua phân tích hóa học về hàm lượng các chất cấu thành nên sản phẩm. Chương này giới thiệu phương pháp, trình tự tiến hành và kỹ thuật phân tích một số chất hoặc hợp chất quan trọng như: độ ẩm, protid, glucid, lipid... Đây là một chương quan trọng rèn luyện thao tác và tính chính xác khoa học.



Mục tiêu:

- Trình bày được nguyên tắc, quy trình phân tích, đánh giá kết quả một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm;
- Nêu được trình tự các bước tiến hành phân tích một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm.
- Thực hiện thành thạo thao tác xác định được một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức tiết kiệm hóa chất, bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành, thực tập;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành, thực tập.

A. Nội dung:

1. XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM

Dùng phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi

1.1. Nguyên tắc: Dùng sức nóng làm bay hơi nước trong sản phẩm. Cân sản phẩm trước và sau khi sấy, từ đó tính được độ ẩm của sản phẩm.

1.2. Dụng cụ, hóa chất

- Tủ sấy điều chỉnh được nhiệt độ 105 – 110°C
- Cân phân tích
- Bình hút ẩm
- Chén sấy
- Bếp cách thủy, bếp điện

1.3. Các bước tiến hành

Chén sấy được sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105°C. Để nguội trong bình hút ẩm rồi đem cân để biết khối lượng G. Cân m (g) mẫu trong chén sấy (G_1). Cho chén sấy đựng mẫu thử vào tủ sấy ở nhiệt độ 105°C. Thời gian sấy là 2-3 giờ. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Lại sấy tiếp trong 30 phút, lấy ra để nguội và cân. Làm như vậy cho đến khi đạt tới khối lượng không đổi. Ghi kết quả của lần cân cuối (G_2).

1.4. Kết quả và nhận xét

Độ ẩm (W) của sản phẩm thử tính bằng phần trăm theo công thức:

$$W = \frac{G_1 - G_2}{G_1 - G} \cdot 100(\%)$$

Trong đó :

G : Khối lượng chén sấy khô, g

G₁ : Khối lượng chén sấy có mẫu thử trước khi sấy, g

G₂ : Khối lượng chén sấy có mẫu thử sau khi sấy, g

Lưu ý:

- Đối với một số sản phẩm khó sấy khô, để rút ngắn thời gian sấy cần nghiền nhỏ hay thái mỏng, có thể sử dụng nhiệt độ sấy cao đến 130°C hoặc trộn lẫn với cát khô, sạch (đã được xử lý bằng HCl) trong khi sấy.

- Đối với những sản phẩm có nhiều nước thì phải làm bốc hơi trên nồi cách thủy đến kiệt nước sau đó mới cho vào tủ sấy.

Ưu nhược điểm của phương pháp:

- Là phương pháp đơn giản và nhanh nhất để xác định độ ẩm.

- Tuy nhiên, phương pháp này có thể cho những kết quả sai số vì các chất dễ bay hơi như: cồn, tinh dầu, acid bay hơi cùng bay hơi với nước khi sấy hoặc có sự phân giải thành fufurol, amoniac khi sấy các sản phẩm có nhiều đường đậm. Đối với các thực phẩm có nhiều chất béo còn xảy ra quá trình oxi hóa. Các sản phẩm chứa nhiều đường khi sấy sẽ bị caramen hóa.

2. XÁC ĐỊNH ĐỘ ACID, ĐỘ KIỀM, HÀM LƯỢNG MUỐI ĂN

2.1. Xác định độ acid

2.1.1. Sơ lược về lý thuyết

Hàm lượng acid tổng số được tính theo số ml NaOH 0,1N đã dùng để chuẩn độ 100g (100ml) mẫu sản phẩm.

Xác định độ acid tổng số là xác định toàn bộ acid tự do có trong mẫu, nghĩa là toàn bộ acid hữu cơ cũng như acid vô cơ, acid dễ bay hơi cũng như khó bay hơi.

Nguyên tắc xác định dựa vào phản ứng trung hòa:



Dùng dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn độ hết lượng acid có trong mẫu với chỉ thị tương ứng.

2.1.2. Hóa chất, nguyên vật liệu

*** Mẫu:**

- Kẹo
- Nước mắm
- Bột mì

*** Hóa chất**

- Dung dịch NaOH 0,1N
- Chỉ thị phenolphthalein 1%
- Nước cất

2.1.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Cân phân tích

- Phễu thủy tinh

- Cối chày sứ
- Buret, pipet
- Bình định mức 100ml
- Bình tam giác 250ml
- Bông thấm nước
- Cốc thủy tinh

2.1.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu:

+ Kẹo mềm: nghiền nát, cân 5g, hòa tan bằng nước cất và cho vào bình định mức, định mức 100ml.

+ Nước mắt: Hút 10ml cho vào bình định mức, định mức 100ml.

+ Bột mỳ: Cân 10g, hòa tan bằng nước cất và cho vào bình định mức, định mức 100ml. Thỉnh thoảng lắc nhẹ bình nón cho acid tan hết vào nước. Lọc qua bông thu lấy dịch lọc trong.

- Chuẩn độ:

+ Buret: Dung dịch NaOH 0,1N

+ Cho vào bình nón 250ml: 20ml dung dịch lọc mẫu và 3-5 giọt chỉ thị phenolphthalein m lọc và hứng nước lọc vào cốc, rửa giấy lọc bằng nước cất nhiều lần.

+ Chuẩn độ bằng NaOH 0,1N với chỉ thị phenolphthalein đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng nhạt. Nếu dung dịch lọc có màu đậm thì không chuẩn đến màu hồng nhạt mà chuẩn đến khi màu chuyển đột ngột, nghĩa là màu đang tới đến điểm trung hòa chuyển sang màu hồng sáng hơn.

- Ghi thể tích dung dịch NaOH 0,1N tiêu tốn.

- Tiến hành thí nghiệm 2 -3 lần, lấy kết quả trung bình.

- Vệ sinh dụng cụ

* *Chú ý:* Trong sản xuất, để đáp ứng kịp thời thông báo kết quả, cũng có thể xác định acid tổng số bằng chuẩn độ trực tiếp (không lọc) đối với các sản phẩm không có màu đậm (hạt, bột).

2.1.5. Kết quả và nhận xét

Tùy từng loại sản phẩm mà acid được tính như sau:

- Đối với sản phẩm khô:

$$X = \frac{K.V_{NaOH}.V_O.100}{G.V}(\%)$$

- Đối với sản phẩm lỏng:

$$X = \frac{K.V_{NaOH}.V_O.1000}{V_M.V}(g/l)$$

Trong đó:

- V_{NaOH} : Thể tích NaOH 0,1N đã dùng để chuẩn độ (ml)
- V_0 : Thể tích bình định mức (ml)
- V : Thể tích mẫu lấy chuẩn độ (ml)
- G : Lượng cân mẫu (g)

- V_M : Thể tích mẫu phân tích (ml)

- K : Hệ số để tính ra loại acid tương ứng

Acid acetic $K = 0,0060$ Acid citric $K = 0,0064$

Acid lactic $K = 0,0090$ Acid tartaric $K = 0,0075$

Acid malic $K = 0,0067$

Tùy theo mỗi sản phẩm sẽ tính được theo acid quy định theo loại sản phẩm đó.

Ví dụ : Đối với nước mắm thì tính theo acid acetic. Đối với kẹo tính theo acid citric.

2.2. Xác định độ kiềm

2.2.1. Sơ lược về lý thuyết

Nguyên tắc xác định dựa vào phản ứng trung hòa:



Dùng dung dịch H_2SO_4 0,1N để chuẩn độ hết lượng kiềm có trong mẫu với chỉ thị tương ứng.

Độ kiềm được tính bằng số ml H_2SO_4 1N đã dùng để chuẩn độ hết lượng kiềm có trong 100g mẫu.

2.2.2. Hóa chất, nguyên vật liệu

- Dung dịch H_2SO_4 0,1N - Chỉ thị Metyla đỏ 0,2%

- Chỉ thị Bromotymol xanh 0,5% (pH = 6-7,6)

- Nước cất

* **Mẫu:** Bánh quy, kẹo mềm

2.2.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Cân phân tích - Phễu thủy tinh

- Ống đong - Bông thấm nước

- Buret, pipet - Cốc thủy tinh

- Bình định mức 100ml - Bình nón 250ml

2.2.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu:

+ Cân 10g mẫu dạng khô (đặc) đã được nghiền nhỏ, hoặc dùng pipet lấy 10ml sản phẩm lỏng.

+ Cho vào bình định mức dung tích 100ml. Định mức đến vạch bằng nước cất. Để yên trong 10 phút, thỉnh thoảng lắc nhẹ bình định mức để kiềm tan vào trong nước.

+ Đem lọc qua một lớp bông thấm nước mỏng và hứng dung dịch lọc vào cốc.

- Chuẩn độ:

+ Trên buret chứa dung dịch H_2SO_4 0,1N

+ Dùng pipet hút chính xác 10 ml dung dịch trong bình định mức, cho vào bình nón thêm 3 – 5 giọt chỉ thị Bromotymol xanh 0,5%.

+ Chuẩn độ dung dịch bằng H_2SO_4 0,1N đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh sang màu vàng thì dừng.

- Ghi thể tích dung dịch H_2SO_4 0,1N tiêu tốn.
- Tiến hành thí nghiệm 2 -3 lần, lấy kết quả trung bình.
- Vệ sinh dụng cụ

2.2.5. Kết quả và nhận xét

Hàm lượng kiềm của sản phẩm được tính theo công thức:

$$X = \frac{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 100}{G_m} \cdot \frac{V_0}{V} (\%)$$

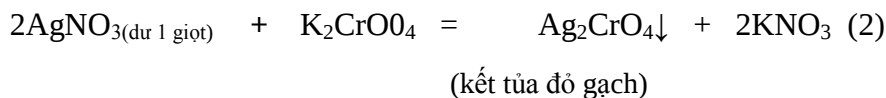
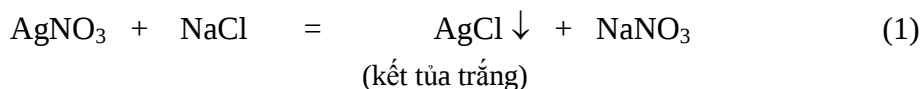
Trong đó :

- $V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$: số ml H_2SO_4 0,1N đã dùng để chuẩn độ
- $G_{\text{mẫu}}$: lượng cân mẫu (g)
- $V_{\text{mẫu}}$: thể tích mẫu ban đầu (ml)
- V_0 : thể tích mẫu bình định mức (ml)
- V : thể tích dung dịch mẫu đem đi chuẩn độ (ml)

2.3. Xác định hàm lượng muối ăn

2.3.1. Sơ lược về lý thuyết

Dựa trên sự kết tủa phân đoạn, chuẩn độ bằng dung dịch chuẩn AgNO_3 0,1N với chỉ thị K_2CrO_4 , Khi dư một giọt AgNO_3 thì kết tủa màu đỏ gạch Ag_2CrO_4 .



Khi xuất hiện kết tủa đỏ gạch thì kết thúc định phân. Từ số ml AgNO_3 0,1N tiêu tốn tính được hàm lượng Cl^- có trong sản phẩm

2.3.2. Hóa chất

- Dung dịch AgNO_3 0,1N
- NaHCO_3 (NaOH) 0,01N
- CH_3COOH 2%
- Chỉ thị K_2CrO_4 0,5%
- Chỉ thị phenolphthalein 1%
- Nước cất

* **Mẫu:** bánh quy, nước máy, nước mắm

2.3.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Bình định mức dung tích 100ml
- Bình nón dung tích 100ml, 250ml
- Cân phân tích
- Buret, pipet, đĩa thủy tinh, phễu thủy tinh, cốc thủy tinh.

2.3.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu thử:

Tùy theo dạng sản phẩm, chuẩn bị mẫu như sau:

+ Đối với sản phẩm lỏng: lấy 5- 10ml mẫu cho vào bình định mức và định mức bằng nước cất đến vạch. Lắc đều. Để yên một thời gian.. Đối với sản phẩm có màu đậm thì phải pha loãng 5 - 10 lần.

+ Đối với sản phẩm đặc: cắt hay xay nhỏ, cân 10 -15g và lắc với nước nóng khoảng 2h, cho vào bình định mức và định mức bằng nước cất đến vạch. Lắc đều. Để yên một thời gian. Lọc qua giấy lọc, bông (nếu dung dịch đục, có cặn).

- Trung hòa mẫu thử

Cho vào bình tam giác 250ml: 10 - 20ml dung dịch mẫu thử đã chuẩn bị, được cho thêm vào 10 - 20ml nước cất, 0,5ml phenolphthalein 1% . Nếu :

+ Dung dịch trong bình nón không màu thì dùng NaHCO_3 (NaOH) 0,01N trung hòa cho đến khi có màu hồng. Sau đó, nhỏ vài giọt CH_3COOH 2% để mất màu hồng.

+ Dung dịch trong bình nón có màu hồng thì dùng CH_3COOH 2% trung hòa cho đến khi mất màu hồng.

- Chuẩn độ dung dịch mẫu

+ Sau khi đã có dung dịch mẫu thử trung tính, cho thêm vào bình nón 0,5ml K_2CrO_4 0,5%.

+ Buret: dung dịch AgNO_3 0,1N

+ Chuẩn độ dung dịch trong bình nón bằng dung dịch AgNO_3 0,1N cho đến khi dung dịch có màu đỏ nâu bền vững. Ghi số ml AgNO_3 0,1N tiêu tốn.

2.3.5. Kết quả và nhận xét

Hàm lượng Cl^- có trong sản phẩm:

- Sản phẩm lỏng:

$$X = \frac{0,00585.V_{\text{Ag}^+}.V_0.1000}{V.V_M} \text{ (g/l)}$$

- Sản phẩm đặc:

$$X = \frac{0,00585.V_{\text{Ag}}.100.V_0}{G.V} \text{ (\%)}$$

Trong đó :

- V_{Ag} : số ml AgNO_3 đã dùng (ml)

- G : lượng cân mẫu (g)

- V : thể tích mẫu lấy để phân tích (đi chuẩn độ) (ml)

- V_M : thể tích mẫu lỏng ban đầu

3. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG LIPID

Tùy thuộc vào loại thực phẩm cần phân tích mà có nhiều phương pháp phân tích khác nhau.

Xác định chất béo bằng thiết bị chiết Soxhlet (phương pháp Soxhlet) thường dùng với những nguyên liệu khô, không dùng để xác định chất béo của sữa.

3.1. Nguyên lý

Dựa vào tính tan hoàn toàn của chất béo trong dung môi hữu cơ. Dùng dung môi hữu cơ trích ly chất béo có trong sản phẩm thực phẩm.

Sau đó làm bay hơi hết dung môi, phần còn lại là chất béo. Cân lượng chất béo còn lại sẽ tính được hàm lượng chất béo có trong thực phẩm

- Yêu cầu của dung môi:

+ Dung môi phải hòa tan hoàn toàn chất béo

+ Có nhiệt độ sôi thấp hơn nhiều so với nhiệt độ sôi của chất béo (có thể bay hơi ở nhiệt độ thường)

+ Thường chọn các dung môi sau: Ete etylic, Ete dầu hỏa, Tetraclorea cacbon.

3.2. Dụng cụ, hóa chất:

Bộ chiết soxhlet, bếp điện hoặc bếp cách thủy

Tủ sấy, bình hút ẩm

Cân phân tích

Mặt kính đồng hồ, đĩa thủy tinh.

3.3. Các bước tiến hành

3.3.1. Sơ đồ tiến hành:

Chuẩn bị mẫu → Chuẩn bị chiết → Tiến hành chiết

→ Thử lipid → Cất dung môi → Bay hơi dung môi

→ Sấy lipid → Cân.

3.3.2. Các bước tiến hành:

- Chuẩn bị mẫu: Cân chính xác 5g mẫu nghiền nhỏ, cho vào ống giấy xốp hoặc gói giấy bằng giấy lọc

- Chuẩn bị chiết: Lắp hệ thống Soxhlet.

+ Cho gói mẫu vào ống chiết của máy.

+ Cho dung môi vào bình cầu (khoảng 2/3 thể tích bình cầu).

- Tiến hành chiết:

+ Đun từ từ dung môi trong bình cầu. Dung môi sôi, bay hơi lên gặp lạnh, ngưng tụ tại ống chiết. Tại đây, dung môi sẽ trích ly chất béo có trong mẫu, đến khi mực nước dung môi trong ống vượt quá đầu trên của ống xi phong, dung môi sẽ tràn về bình cầu mang theo chất béo. Dung môi lại bay hơi, gặp lạnh ngưng tụ tại ống chiết và trích ly chất béo. Quá trình cứ thế tiếp tục, còn chất béo có nhiệt độ sôi cao hơn nên nằm lại ở trong bình cầu.

+ Tiến hành chiết như vậy trong 6-8 h và điều chỉnh nguồn nhiệt sao cho có 6-8 lần dung môi tràn về bình cầu trong 1h.

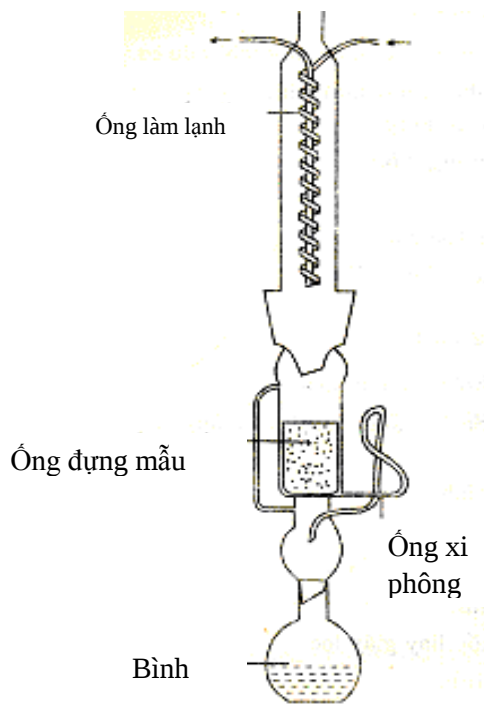
Trong quá trình chiết cần lưu ý:

+ Kiểm tra nước làm lạnh có chảy liên tục không

+ Kiểm tra dung môi, nếu thấy hao hụt phải thêm vào

+ Khi cần nghỉ máy nửa chừng phải để ống giấy ngập trong dung môi

- Thử lipid: Muốn biết quá trình chiết đã kết thúc hay chưa, lấy 1 giọt dung dịch trong ống chiết cho vào mặt kính đồng hồ hay tờ giấy lọc.



Hình 7.1. Thiết bị chiết

Nếu sau khi dung môi bay hơi hết, mặt kính đồng hồ hay giấy lọc không có vết loang thì quá trình chiết kết thúc.

- **Cất dung môi:** Sau khi quá trình chiết kết thúc, lấy gói mẫu ra khỏi ống chiết, tiến hành cất dung môi để thu hồi dung môi

- **Bay hơi dung môi:** Sau khi cất dung môi trong bình cầu, Chuyển chất béo trong bình cầu vào cốc thủy tinh (đã sấy khô và biết khối lượng). Tráng bình cầu bằng một ít dung môi và cũng cho vào cốc thủy tinh. Để dung môi trong cốc bay hơi ở nhiệt độ thường, chú ý tránh bụi.

- **Sấy:** Sau khi bay hơi dung môi, cho cốc vào tủ sấy, sấy ở nhiệt độ 100-150°C đến khối lượng không đổi.

- **Cân:** Lấy cốc thủy tinh cho vào bình hút ẩm, sau đó đem cân để tính khối lượng

3.4. Tính kết quả

Hàm lượng chất béo (x) tính bằng phần trăm theo công thức:

$$x (\%) = \frac{(m_1 - m_0).100}{G}$$

Trong đó:

m_0 : khối lượng của bình cầu không (g)

m_1 : khối lượng của bình cầu chứa chất béo sau khi sấy (g)

G : khối lượng mẫu (g)

Sai lệch giữa hai lần xác định song song không được quá 3%.

4. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG KHỬ

4.1. Phương pháp Bertrand

4.1.1. Sơ lược về lý thuyết

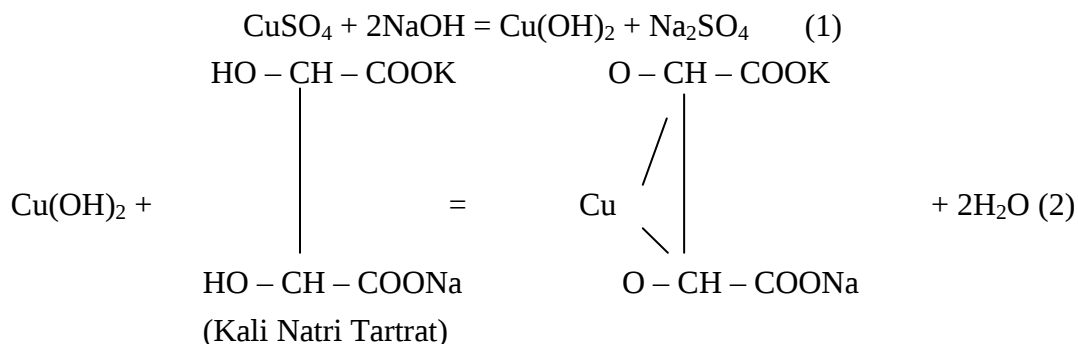
Đường khử là đường có tính khử, mà trong phân tử của chúng có chứa nhóm aldehyde (R-CHO), ceton - C = O hay nhóm - OH glucosid. Ví dụ: glucose, fructose, maltose, lactose ...

Trong môi trường kiềm, đường khử dễ dàng khử ion Cu^{2+} trong dung dịch Fehling tạo thành Cu^+ dưới dạng Cu_2O kết tủa màu đỏ gạch.

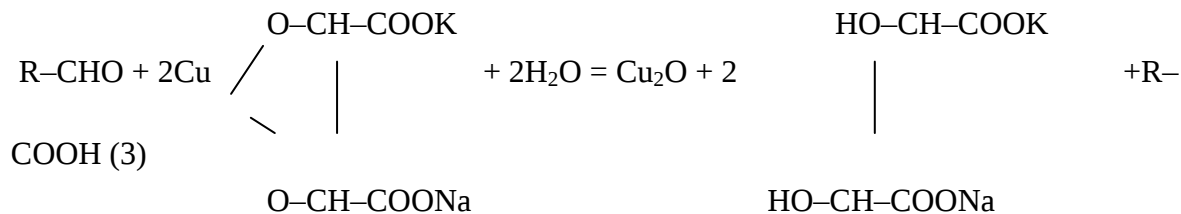
Dung dịch Fehling gồm : Dung dịch Fehling A : CuSO_4

Dung dịch Fehling B : NaOH, Kali NatriTartrat

Phản ứng xảy ra khi trộn chung 2 dung dịch Fehling A và Fehling B :



Đường khử khử hỗn hợp Fehling:



Hòa tan Cu_2O kết tủa bằng dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ trong môi trường H_2SO_4 đậm đặc:



Dùng chất chuẩn KMnO_4 0,1N để chuẩn độ lượng FeSO_4 tạo thành :



Tại thời điểm kết thúc định phân, dung dịch có màu hồng. Từ lượng KMnO_4 0,1N tiêu tốn sẽ tính được hàm lượng đường khử.

4.1.2. Hóa chất, nguyên vật liệu

- Dung dịch Fehling A
- Dung dịch Fehling B
- Dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$
- Dung dịch KMnO_4 0,1N
- Dung dịch NaOH 30%
- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột
- Nước cất

* **Mẫu:** mật rỉ, đường trắng, đường vàng.

4.1.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Ống đong dung tích 50ml, 100ml
- Cân phân tích
- Bộ lọc hút chân không
- Bình định mức dung tích 100ml
- Bình nón dung tích 100ml, 250ml
- Buret, pipet, đĩa thủy tinh, phễu thủy tinh, cốc thủy tinh.

4.1.4. Các bước tiến hành

- **Chuẩn bị mẫu:**
 - + Cân chính xác G(g) mẫu vào cốc thủy tinh (G: tùy thuộc vào từng loại mẫu phân tích).
 - + Hòa tan hoàn toàn bằng nước cất. Chuyển sang bình định mức 100ml. Tráng cốc bằng nước cất cho vào bình định mức trên. Thêm nước cất đến vạch định mức.
- **Tẩy tạp chất:**
 - + Cân acetat chì $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột (1,5g) vào cốc, lấy một ít dung dịch mẫu cho vào cốc, khuấy đều cho tan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột, chuyển dung dịch đã tan vào bình định mức.
 - + Đốc ngược bình định mức vài lần.
 - + Để yên cho đến khi dung dịch phân thành 2 lớp.
 - + Lọc qua giấy lọc, bỏ các giọt dung dịch lọc đầu để tráng bình. Hứng dung dịch lọc vào bình tam giác khô, sạch (gọi là dung dịch mẫu).
 - + Dùng các giọt dung dịch lọc đầu để tráng bình và bỏ đi.
- **Tạo kết tủa:**
 - + Cho vào bình nón 250ml: 10ml dung dịch mẫu, 10ml Fehling A và 10ml Fehling B, lắc nhẹ.

+ Đặt bình nón lên trên bếp điện, đun sôi, thời gian sôi đúng 3 phút.

- *Lắng kết tủa:*

Lấy bình nón ra để nghiêng cho kết tủa lắng xuống. Dung dịch bên trên lớp kết tủa Cu_2O phải còn màu xanh của Cu^{2+} . Nếu mất màu xanh nghĩa là không đủ lượng Cu^{2+} cần thiết để phản ứng. Do đó, phải làm lại với thể tích dung dịch lọc ít hơn (5ml), nhưng phải thêm nước cất cho đủ 10ml.

- *Gạn lọc kết tủa:*

+ Khi kết tủa Cu_2O lắng xuống, gạn phần nước bên trên và lọc qua phễu lọc xóp cắm xuyên qua nút cao su của bình lọc có nhánh nối với máy hút chân không.

+ Rửa kết tủa bằng nước đã đun sôi và gạn lọc tiếp tục vào phễu cho đến khi trong bình nón mất màu xanh. Trong quá trình gạn lọc, không để kết tủa Cu_2O lọt vào phễu và luôn luôn giữ có một lớp nước trên mặt Cu_2O để tránh tiếp xúc với không khí.

- *Hòa tan kết tủa:*

+ Lần cuối cùng gạn hết nước và cho ngay 10-20ml $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ để hòa tan Cu_2O trong bình nón.

+ Thay bình lọc hút này bằng bình lọc hút khác. Đổ dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ đã hòa tan Cu_2O trong bình nón vào phễu lọc. Tráng bình nón và rửa bằng $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ cho đến khi không còn vết Cu_2O trong bình nón và phễu. Tráng phễu rửa lại bằng nước cất đun sôi rồi đổ cả vào phễu và hút hết xuống bình lọc.

- *Chuẩn độ:*

Lấy bình lọc hút ra và chuẩn độ ngay bằng KMnO_4 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 30 giây.

4.1.5. Kết quả và nhận xét

Hàm lượng đường khử được tính bằng % theo công thức :

$$R_s = \frac{a.V_0.100}{G.V.1000} (\%)$$

Trong đó:

- a : lượng glucose tìm được theo bảng tra từ số ml KMnO_4 tiêu tốn (mg)
- V_0 : thể tích bình định mức (ml)
- V : thể tích dung dịch lấy để thử (ml)
- G : lượng cân mẫu (g)

Ví dụ tính toán về cách tính a khi tra bảng:

Khi chuẩn dùng hết 3,7ml KMnO_4 0,1N. Tính a (mg).

Tra bảng ta có:

3,55ml KMnO_4 0,1N → 11mg glucose

3,87ml KMnO_4 0,1N → 12mg glucose

Dùng phương pháp nội suy ta tính được a:

$$a = 11 + \frac{(12 - 11) \times (3,7 - 3,55)}{(3,87 - 3,55)} = 11,46 \text{mg glucose}$$

BẢNG 7.1. BẢNG TÌM LƯỢNG GLUCOSE

GLUCOSE (mg)	KMnO₄ (0,1N)	GLUCOSE (mg)	KMnO₄ (0,1N)	GLUCOSE (mg)	KMnO₄ (0,1N)
10	3,21	41	12,4	72	21,0
11	3,52	42	12,7	73	21,2
12	3,83	43	13,0	74	21,4
13	4,14	44	13,3	75	21,7
14	4,45	45	13,6	76	22,0
15	4,75	46	13,8	77	22,3
16	5,07	47	14,1	78	22,5
17	5,39	48	14,4	79	22,8
18	5,72	49	14,7	80	23,0
19	5,99	50	15,0	81	23,2
20	6,31	51	15,2	82	23,5
21	6,61	52	15,5	83	23,8
22	6,91	53	15,9	84	24,0
23	7,38	54	16,1	85	24,2
24	7,52	55	16,4	86	24,5
25	7,81	56	16,6	87	24,8
26	8,09	57	16,9	88	25,0
27	8,39	58	17,2	89	25,2
28	8,70	59	17,5	90	25,5
29	8,97	60	17,7	91	25,7
30	9,30	61	18,0	92	26,0
31	9,58	62	18,3	93	26,2
32	9,88	63	18,6	94	26,5
33	10,1	64	18,8	95	26,7
34	10,3	65	19,1	96	27,0
35	10,7	66	19,4	97	27,2
36	10,9	67	19,6	98	27,5
37	11,2	68	19,9	99	27,7
38	11,5	69	20,2	100	28,0
39	11,8	70	20,4		
40	12,2	71	20,7		

4.2. Phương pháp Metylen xanh**4.2.1. Sơ lược về lý thuyết**

Đường khử có khả năng khử làm mất màu metylen xanh. Vì vậy dùng metylen xanh làm chất chỉ thị cho phản ứng oxy hóa đường khử bằng Feling. Cho vài giọt metylen xanh vào dung dịch và đun sôi rồi nhỏ từng giọt đường khử vào, đầu tiên đường khử sẽ khử đồng của Feling, màu của metylen xanh không đổi. Khi tất cả đồng của Feling đã bị khử hết, đường sẽ khử metylen xanh làm nó mất màu, đó là dấu hiệu kết thúc định phân.

** Yêu cầu:*

Tiến hành định phân nhanh và luôn giữ trạng thái dung dịch sôi ổn định, vì hợp chất dễ bị oxy hóa và trở về trạng thái màu ban đầu.

4.2.2. Hóa chất, nguyên vật liệu

- Dung dịch Fehling A
- Dung dịch glucose tiêu chuẩn 0,5%
- Chỉ thị Metylen xanh
- * Mẫu: mật rỉ, đường trắng, đường vàng.
- Dung dịch Fehling B
- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột
- Nước cất

4.2.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Bình định mức dung tích 100ml
- Bình nón dung tích 250ml
- Buret, pipet, đĩa thủy tinh
- Ống đong dung tích 50ml, 100ml
- Bếp khuấy từ
- Cốc thủy tinh, phễu thủy tinh
- Cân phân tích

4.1.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu:
 - + Cân chính xác $G(\text{g})$ mẫu vào cốc thủy tinh (G : tùy thuộc vào từng loại mẫu phân tích).
 - + Hòa tan hoàn toàn bằng nước cất. Chuyển sang bình định mức 100ml. Tráng cốc bằng nước cất cho vào bình định mức trên. Thêm nước cất đến vạch định mức.
- Tẩy tạp chất:
 - + Cân acetat chì $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột (1,5g) vào cốc, lấy một ít dung dịch mẫu cho vào cốc, khuấy đều cho tan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ bột, chuyển dung dịch đã tan vào bình định mức.
 - + Đổ ngược bình định mức vài lần.
 - + Để yên cho đến khi dung dịch phân thành 2 lớp.
 - + Lọc qua giấy lọc, bỏ các giọt dung dịch lọc đầu để tráng bình. Hứng dung dịch lọc vào bình tam giác khô, sạch (gọi là dung dịch mẫu).
 - + Dùng các giọt dung dịch lọc đầu để tráng bình và bỏ đi.
- Tạo kết tủa (xác định thông số V):
 - + Lấy dung dịch mẫu đã chuẩn bị cho vào buret.
 - + Cho vào bình tam giác 250ml: 5ml Fehling A, 5ml Fehling B, 20ml nước cất, lắc nhẹ.
 - + Đặt bình nón lên trên bếp điện, đun sôi, sôi đúng 2 phút.
 - + Để yên bình tam giác trên bếp khuấy từ, chuẩn độ nhanh dung dịch trong bình nón bằng dung dịch mẫu trên buret, đến khi dung dịch trong bình nón mất màu xanh hoàn toàn.
 - + Kiểm chứng bằng chỉ thị metylen xanh 0,5%: cho 3 giọt metylen xanh, nếu dung dịch trong bình nón không trở lại màu xanh thì phản ứng đã kết thúc.
 - + Ghi số ml dung dịch mẫu tiêu tốn: $V(\text{ml})$
- Chuẩn độ nồng độ dung dịch Fehling (xác định thông số f):
 - Làm lặp lại các bước thí nghiệm như bước tạo kết tủa trên nhưng thay dung dịch chuẩn trên buret bằng dung dịch glucose tiêu chuẩn 0,5%.
 - + Ghi số ml glucose tiêu chuẩn 0,5% đã tiêu tốn: $f(\text{ml})$.

4.1.5. Kết quả và nhận xét

Hàm lượng đường khử của mẫu được tính bằng %:

$$R_s = \frac{0,5}{100} \cdot \frac{f \cdot V_0}{V} \cdot \frac{100}{G} (\%)$$

Trong đó :

- f : thể tích glucose tiêu chuẩn 0,5% tiêu tốn (ml)
- V_0 : thể tích bình định mức (ml)
- V : thể tích dung dịch mẫu tiêu tốn (ml)
- G : lượng cân mẫu (g)

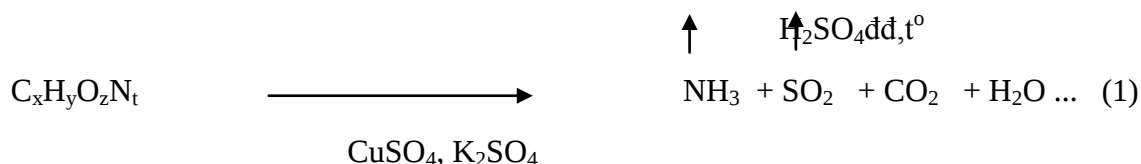
5. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN

5.1. Nguyên tắc xác định hàm lượng protein

Mẫu phân tích đưa vào máy chưng cất đạm VAP20. Sau thời gian chưng cất, dựa vào số liệu hiện trên máy đọc được hàm lượng nitơ toàn phần có trong nguyên liệu thực phẩm. Trong thực phẩm, thường xác định hàm lượng protein thông qua xác định hàm lượng nitơ toàn phần, nitơ formol và amoniac.

Trong thực phẩm, những hợp chất có chứa nitơ thường ở dưới dạng protein, amino acid, peptid... ngoài ra còn có muối amon (NH_4^+)... Xác định hàm lượng nitơ toàn phần là xác định hàm lượng tất cả các hợp chất có chứa nitơ.

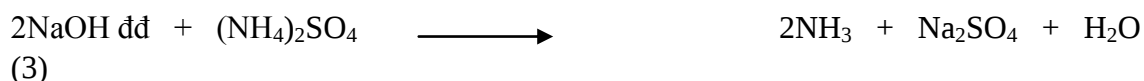
Các hợp chất protein được vô cơ hóa bằng dung dịch H_2SO_4 đậm đặc và có chất xúc tác. Trong số các chất tạo thành do sự vô cơ hóa có amoniac (NH_3):



NH_3 vừa mới sinh ra tác dụng ngay với H_2SO_4 đđ



Dùng kiềm mạnh (NaOH) đẩy NH_3 từ muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ra dạng tự do:



Cất NH_3 và dùng dung dịch H_2SO_4 0,1N (đã biết trước thể tích) để hấp phụ NH_3 :



Dùng dung dịch kiềm chuẩn lượng dung dịch H_2SO_4 dư sẽ biết được thể tích dung dịch H_2SO_4 kết hợp với NH_3 . Từ đó tính lượng Nitơ toàn phần.



Hàm lượng protein trong sản phẩm được tính theo công thức:

$$\text{Protein} = K \cdot \text{Hàm lượng nitơ toàn phần}$$

K là hệ số, K thay đổi tùy theo từng loại sản phẩm như trong bảng 7.

Bảng 7.2. Bảng hệ số K tương ứng với từng loại sản phẩm

Loại thực phẩm	Hệ số K
Lúa mì, đậu	5,7
Ngô	6,0

Thực phẩm nguồn gốc động vật	6,25
Sữa	6,38
Khoai tây	8,0

5.2. Hóa chất, nguyên vật liệu

- Chỉ thị phenolphthalein 1%
- Chỉ thị metyla đỏ 0,2%
- Dung dịch NaOH 30%
- Dung dịch NaOH 0,1N
- Dung dịch chuẩn H_2SO_4 0,1N hoặc dung dịch HCl 0,1N
- Dung dịch H_2SO_4 đậm đặc ($d = 1,84g/ml$)
- Chất xúc tác: dùng hỗn hợp sau: (K_2SO_4 , $CuSO_4$).
- Giấy quì
- Nước cất
- * Mẫu: Nước mắm

5.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Cân phân tích
- Máy vô cơ hóa mẫu
- Máy hút khí độc
- Máy chưng cất đạm
- Bình Kjeldahl dung tích 500ml
- Pipet, buret, bình tia, bình tam giác

5.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu:

Tùy hàm lượng protein có trong thực phẩm hoặc tùy theo dạng sản phẩm mà lấy mẫu thử như sau:

a) Sản phẩm rắn:

- + Nếu hàm lượng protein trong mẫu nhiều: $0,3 \div 0,5g$ mẫu
- + Nếu hàm lượng protein thấp: $1 \div 2g$ mẫu.

Sản phẩm khô sau khi cân gói vào giấy lọc không tro, cho vào bình Kjeldahl.

b) Sản phẩm ướt:

Tùy mẫu có ít hay nhiều protein mà cân lượng mẫu, thường cân 1g vào cốc. Chuyển mẫu vào bình Kjeldahl, cho nước cất tráng cốc và cho vào bình Kjeldahl (dùng càng ít nước càng tốt).

c) Sản phẩm lỏng:

Dùng pipet hút chính xác $2 \div 10ml$ mẫu cho vào bình định mức 100ml rồi thêm nước cất đến vạch, lắc đều, lấy 10ml cho vào bình Kjeldahl.

- Chuẩn bị vô cơ hóa mẫu:

+ Cho tiếp vào bình Kjeldahl 2g hỗn hợp chất xúc tác (tỷ lệ $K_2SO_4:CuSO_4 = 6:1$) và 3ml dung dịch H_2SO_4 đậm đặc, dùng ít nước sạch tráng sạch cổ bình.

- Vô cơ hóa mẫu:

- + Lắp bình Kjeldahl vào máy vô cơ hóa mẫu.
- + Máy xử lý khí độc:

Gắn các đầu ống hút khí độc lên miệng bình Kjeldahl sao kín và khít để tránh cho khí độc bay ra ngoài.

Gắn đầu ống dẫn nước làm lạnh vào vòi nước.

Cắm điện. Bật công tắc khởi động máy.

Chỉnh xoay nút điều chỉnh tốc độ đến mức độ số 6 để điều chỉnh tốc độ sục khí và hút khí độc.

Gắn ống dẫn nước làm mát vào máy hút khí độc và máy vô cơ hóa mẫu.

+ Máy phá mẫu (vô cơ hóa mẫu):

- . Gắn đầu ống dẫn nước làm lạnh vào vòi nước.

- . Cắm điện.

- . Bật công tắc khởi động máy:

- . Máy sau khi khởi động sẽ hiển thị vào màn hình chính Main menu

- . Nếu chọn theo chương trình cài sẵn là chương trình Program 1 (200⁰C, 30 phút) thì nhấn Enter.

Nếu chọn chương trình khác thì chỉnh chương trình như sau:

- . Nhấn Down → Chọn chương trình (Down, Up) → Enter

- . Cài nhiệt độ, thời gian: nhấn Down → Set → chỉnh nhiệt độ (nhấn Down, Up → Enter) → chỉnh thời gian (nhấn Down, Up → Enter).

- . Bấm thoát khỏi chương trình: nhấn Esc.

- . Chạy chương trình vừa cài đặt: nhấn Enter.

*** Chú ý:**

Nếu thực phẩm chứa nhiều nước, đun cho nước bốc hơi và hình thành khói trắng. Khi bọt tan, đun nhẹ, sau vài phút chuyển sang đun mạnh cho đến khi toàn bộ dung dịch trong bình Kjeldahl trong suốt, không màu hoặc có màu xanh lơ của dung dịch CuSO₄, để nguội. Thời gian vô cơ hóa khoảng 30 phút.

Giai đoạn vô cơ hóa mẫu trên bếp điện phải được đun từ từ, nếu đun mạnh dung dịch trong bình Kjeldahl sẽ trào ra thành bình.

- Chuẩn bị cất mẫu:

- + Bình tam giác 250ml: lấy chính xác 10ml dung dịch H₂SO₄ 0,1N và 3-5giọt chỉ thị metyla đỏ 1%.

- + Làm nguội bình Kjeldahl vô cơ hóa mẫu và chuyển mẫu thử đã vô cơ hóa vào bình Kjeldahl cất mẫu. Tráng bình Kjeldahl vô cơ hóa mẫu nhiều lần bằng nước cất.

- + Lắp nối đầu ống hệ thống dẫn nước làm mát vào vòi nước.

- + Bỏ sung dung dịch NaOH 20% vào bình chứa dung dịch NaOH 20%.

- + Nối ống của bơm NaOH đến ống PVC của bình đã có chứa NaOH 20%.

- + Bỏ sung nước cất vào bình chứa nước cất.

- + Nối ống của bơm nước cất đến ống PVC của bình đã có chứa nước cất.

- + Lắp ống Kjeldahl có chứa mẫu đã vô cơ hóa mẫu vào hệ thống cất đậm (kéo cửa kính bảo vệ lên, hạ thấp kẹp giữ ống xuống để đặt ống Kjeldahl vào)

+ Lắp bình tam giác 250ml hứng dung dịch vào đầu ống ngưng tụ sao cho đầu ống làm lạnh phải nhúng ngập hẳn vào dung dịch trong bình. Đóng kính bảo vệ lại.

+ Nối cấp điện vào ổ cắm sau lưng máy. Gắn phích cắm còn lại vào ổ điện nguồn. Công tắc chính của máy đang ở vị trí O.

+ Công tắc ở phía sau máy phải đặt ở vị trí I trước khi vận hành.

+ Kiểm tra bình chứa hóa chất, nước cất, các đầu nối ống dẫn.

+ Bật công tắc chính.

+ Khởi động chương trình chạy:

. Chọn chương trình Program 1 → Nhấn Enter.

. Máy chạy khởi động khoảng 5 phút để đun nước nóng. Sau khi đun xong máy sẽ kêu báo “tít...tít...tít”.

. Nhấn “RUN” để máy bắt đầu làm việc theo chương trình đã cài đặt tiến hành vô cơ hóa mẫu.

*** Chú ý:**

. Nếu muốn giữ chương trình cũ cho lần chưng cất tiếp theo thì nhấn RUN để bắt đầu chương trình sau

. Nếu muốn thay đổi chương trình, lập lại chương trình mới. Nếu đã chưng cất xong thì tắt công tắc để cài đặt lại

. Nếu muốn ngừng máy bất kỳ lúc nào bằng cách nhấn phím “Reset”

. Mỗi ngày trước khi thực hiện chưng cất mẫu, nên chưng cất thử mẫu trắng

+ Ngừng máy: bấm công tắc thoát.

- Chuẩn độ:

Chuẩn độ thể tích dung dịch H_2SO_4 0,1N dư trong bình nón bằng dung dịch NaOH 0,1N cho đến khi dung dịch trong bình tam giác chuyển màu. Ghi thể tích dung dịch NaOH 0,1N đã dùng.

- Cất mẫu trắng:

Tiến hành xác định một mẫu trắng (không có sản phẩm) với lượng các hóa chất và thao tác như trên.

5.5. Kết quả và nhận xét

Hàm lượng nitơ toàn phần của sản phẩm dạng khô hay ướt tính bằng (%) theo công thức:

Hàm lượng nitơ toàn phần của sản phẩm lỏng tính bằng (g/l) theo công thức:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0014 \cdot 1000 \cdot V_o}{V \cdot V'}$$

Trong đó:

- V_o : thể tích bình định mức (ml)

- V' : thể tích dung dịch mẫu lấy để cất (ml)

- V_1 : thể tích dung dịch NaOH 0,1N tiêu tốn để chuẩn mẫu trắng (ml)

- V_2 : thể tích dung dịch NaOH 0,1N tiêu tốn để chuẩn mẫu thử (ml)

- V : thể tích mẫu phân tích (ml)

- G : khối lượng mẫu (g)
- 0,0014: khối lượng nitơ ứng với 1ml dung dịch NaOH 0,1N (g)

6. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG UREA

6.1. Nguyên tắc xác định

Sau khi đã loại gây nhiễu trong mẫu bằng cách kết tủa, người ta cho dung dịch mẫu tác dụng với thuốc thử p_ dimetylaminobenzaldehyde (DMAB) ở pH trung tính. Urê sẽ phản ứng với DMAB cho một hợp chất có màu vàng, hấp thu ánh sáng cực đại tại bước sóng 420nm.

6.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- | | |
|------------------|-----------------------|
| - Nước mắm | - Than hoạt tính |
| - Cá tươi | - Đệm photphat (pH=7) |
| - Kẽm acetat | - DMAB |
| - Kaliferixianua | - Urê tiêu chuẩn |

6.3. Trang thiết bị, dụng cụ:

- | | |
|------------------|-----------------|
| - Máy so màu | - Cân phân tích |
| - Bình định mức | - Giấy lọc |
| - Máy lắc | - Đũa thủy tinh |
| - Phễu thủy tinh | |

6.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu:

- + Mẫu nước mắm: Hút 5 ml nước mắm, cho vào bình định mức 100ml.
- + Tiếp tục cho vào bình định mức: 1g bột than hoạt tính, 30ml nước cất, 0,5g Kẽm acetat, 0,5g Kaliferixianua.
- + Lắc trong 30 phút trên máy lắc, sau đó thêm nước đến vạch định mức. Trộn đều hỗn hợp dịch trong bình định mức bằng cách lộn ngược bình nhiều lần. Để yên cho lắng.
- + Lọc phần dung dịch bên trên bằng giấy lọc whatman số 40, bỏ đi khoảng 20ml dịch lọc ban đầu. Dịch lọc phải trong suốt.
- + Làm song song một mẫu trắng.

- Hiện màu:

- + Chuẩn bị hai ống nghiệm sạch, khô.

Ống 1: Cho vào 5ml dịch lọc của mẫu thử

Ống 2: Cho vào 5 ml dịch lọc của mẫu trắng

- + Làm cho dung dịch trong các ống và dung dịch DMAB về cùng nhiệt độ phòng rồi cho tiếp vào mỗi ống 5ml dung dịch DMAB và lắc trộn đều.

Chú ý: Nếu khi cho dung dịch DMAB vào mà dung dịch trong ống chuyển đục thì xử lý mẫu chưa đạt. Phải chuẩn bị lại mẫu với lượng chất khử tạp lớn hơn.

- Chuẩn bị dãy dung dịch urea tiêu chuẩn

Ống 3: Cho vào 5ml dịch urea 0,1%

Ống 4: Cho vào 5ml dịch urea 0,25%

Ống 5: Cho vào 5ml dịch urea 0,5%

Ống 6: Cho vào 5ml dịch urea 0,75%

Ống 7: Cho vào 5ml dịch urea 1%

Cho tiếp vào mỗi ống 5ml dung dịch DMAB và lắc trộn đều.

- *Đo màu:*

Sau 10 phút đo độ hấp thụ quang học của dung dịch trong ống 1 và ống 2 trên máy so màu (Amẫu và Atrắng).

Đo độ hấp thụ quang học của các dung dịch Urea tiêu chuẩn là 0,1%; 0,25%; 0,5%; 0,75%; 1% (ống 3, 4, 5, 6, 7) tương ứng với các giá trị độ hấp thụ quang học đo được là A0,1%; A0,25%; A0,5%; A0,75%; A 1%

Vẽ đường tiêu chuẩn thể hiện sự tương quan A theo hàm lượng urê (mg/5ml). Lấy hiệu số của (A mẫu - A trắng) rồi đối chiếu với đường chuẩn để tính ra hàm lượng urê trong dịch lọc (X mg/5ml)

6.5. Kết quả và nhận xét:

Hàm lượng urea của mẫu nước mắt tính theo (mg/l):

$$\text{Urê} = X.20.1000.10 \text{ (mg/l)}$$

7. XÁC ĐỊNH HÀN THE

7.1. Nguyên tắc xác định

Mẫu thực phẩm được acid hóa bằng HCl, sau đó đem đun nóng trên nồi cách thủy. Acid boric (H_3BO_3) hoặc Natri borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) được phát hiện bằng giấy nghệ. Sự có mặt của H_3BO_3 hoặc $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ sẽ chuyển màu vàng của giấy nghệ sang màu đỏ cam.

7.2. Nguyên vật liệu, hóa chất:

- | | |
|-----------------|---------------------------------|
| - Mẫu chả | - Giấy nghệ |
| - HCl đậm đặc | - Dd H_3BO_3 1% |
| - Giấy quỳ xanh | - Giấy lọc |
| - Nước cất | |

7.3. Trang thiết bị, dụng cụ:

- | | |
|---------------------------|-------------------------------|
| - Cân kỹ thuật | - Dao |
| - Cối chày sứ | - Nhíp sắt |
| - Bình định mức | - Đũa thủy tinh |
| - Ống nghiệm 15 ml có nút | - Bình nón 250 ml, cốc 250 ml |

7.4. Các bước tiến hành

7.4.1. Chuẩn bị mẫu thử:

- Cho vào cốc 250ml : 25g chả đã nghiền nhỏ, 50 ml nước cất
- Dùng đũa thủy tinh trộn mẫu, acid hóa mẫu bằng 1,7 ml HCl đậm đặc. Kiểm tra bằng giấy quỳ xanh (giấy quỳ phải chuyển sang màu đỏ). Đun cách thủy trong 30 phút, để lắng. Sau đó chắt lấy phần dịch thử để phân tích.

7.4.2. Định tính:

- Nhúng dải giấy nghệ vào phần dịch thử cho thấm đều. Lấy ra để khô tự nhiên rồi đọc kết quả sau 1 giờ nhưng không quá 2 giờ.
- Tiến hành đồng thời một mẫu trắng để so sánh (thay 25g mẫu bằng 25ml nước cất và làm theo qui trình trên).
- Nếu màu của giấy nghệ chuyển từ vàng sang đỏ cam thì trong mẫu có H_3BO_3 hoặc $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. Để khẳng định sự có mặt của H_3BO_3 hoặc $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ thì tiếp tục hơ giấy này trên hơi

amoniac, màu đỏ cam sẽ chuyển thành màu xanh đen và chuyển lại màu đỏ hồng ở môi trường acid (hơ trên miệng lọ HCl).

7.4.3. Định lượng H_3BO_3 hoặc $Na_2B_4O_7$ trong mẫu thử

- Tiến hành phản ứng lên màu:

Dùng 9 ống nghiệm có nút dung tích 15 ml, đánh số từ 1 đến 9, cho vào các hóa chất lần lượt như sau, đậy kín, lắc đều

Ống số	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Hóa chất									
H_3BO_3 1% (ml)	0,0	0,1	0,2	0,5	0,75	1,0	2,5	5,0	0,0
Nước cất (ml)	10,0	9,9	9,8	9,5	9,25	9,0	7,5	5,0	0,0
Hàm lượng H_3BO_3 (g/10ml của dãy chuẩn)	0,0	1,0	2,0	5,0	7,5	10,0	25,0	50,0	0,0
Dung dịch mẫu thử (ml)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0
HCl 36%	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Nồng độ % H_3BO_3 trong mẫu thử	0,00	0,02	0,04	0,10	0,15	0,2	0,5	1,0	X

- Tiến hành so màu

Dùng giấy nghệ đã được đánh dấu một đầu (Giấy số 9), nhúng đầu không đánh dấu vào dịch thử trên (1/2 chiều dài giấy). Dùng kẹp lấy ra để khô trong không khí.

+ Đồng thời nhúng những tờ giấy nghệ đã được đánh số từ 1 đến 8 theo dãy dung dịch chuẩn có số tương ứng. Sau đó để khô như trên.

+ Đọc kết quả sau 1 giờ nhưng không quá 2 giờ. So sánh giấy mẫu thử (giấy số 9) với dãy giấy chuẩn (giấy số 1- 8) trên một tờ giấy trắng làm nền, dưới ánh sáng tự nhiên để nhận xét.

7.5. Kết quả và nêu nhận xét

Nếu màu của giấy mẫu thử tương đương màu của giấy chuẩn nào thì nồng độ H_3BO_3 trong mẫu thử tương đương với nồng độ H_3BO_3 của ống chuẩn tương ứng với giấy chuẩn đó.

Nồng độ H_3BO_3 trong mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$C = A.100/5$$

Trong đó:

C; Số mg acid boric trong mẫu phân tích

A: Số mg acid boric trong 10ml dung dịch ống chuẩn có màu bằng ống thử.

5: Lượng mẫu thử tương ứng với 10ml dịch chiết dùng cho thử nghiệm.

Chú ý:

- Nếu màu nằm giữa hai chuẩn thì giá trị được ước lượng giữa hai khoảng đó.

- Nếu màu giấy mẫu thử vượt quá màu dãy giấy chuẩn thì phải làm lại thử nghiệm với sự pha loãng của dịch thử và đánh giá kết quả theo dãy chuẩn như trên.

8. XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ TIÊU LÝ HÓA CỦA BIA

8.1. Xác định nồng độ chất khô

8.1.1. Nguyên tắc

Để xác định nồng độ chất khô, ngoài phương pháp khúc xạ kế, phương pháp sử dụng chiết quang kế cũng đang được dùng rộng rãi.

Phương pháp này dựa vào chiết suất để suy ra nồng độ chất khô. Sau khi cho dung dịch vào lăng kính của máy sẽ đọc được chiết suất hay nồng độ của chất khô của dung dịch.

Dựa vào chỉ số đo được trên chiết quang kế ($^{\circ}\text{Bx}$) để biết tỷ lệ % chất khô hòa tan có trong dịch.

8.1.2. Hóa chất

- Nước cất

* Mẫu: Bia lon



8.1.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Chiết quang kế cầm tay có dải đo 0-32

- Khăn lau mềm

Hình 7.2. Chiết quang kế cầm tay

8.1.4. Các bước tiến hành

* Cách sử dụng chiết quang kế:

Các chiết quang kế có cấu tạo khác nhau, nhưng cách sử dụng nói chung giống nhau.

- Mở nắp lăng kính

- Dùng đũa thủy tinh cho 1÷2 giọt dung dịch, đẩy chặt cho cẩn thận.

- Điều chỉnh gương phản xạ chiếu để ánh sáng trong vùng quan sát thật đều.

- Quay ốc điều chỉnh để tìm ranh giới giữa vùng tối và sáng theo hình chữ thập, hoặc đường chéo trong từng loại máy.

- Dùng ốc khử màu điều chỉnh cho đến khi ranh giới giữa hai vùng đen đậm không có các ánh sáng khác.

- Đọc chiết suất hoặc nồng độ chất khô trên thước đo.

* **Chú ý:** Nếu nhiệt độ $t \neq 20^{\circ}\text{C}$ phải tra bảng để hiệu chỉnh

Bảng 7.3. Bảng hiệu chỉnh nồng độ chất khô (%) đo được về nhiệt độ 20°C (đo bằng chiết quang kế)

$t^{\circ}\text{C}$		Nồng độ chất khô đo được (%)				
		10	15	20	25	30
8	Trừ	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7
9		0,5	0,6	0,6	0,7	0,7
10		0,5	0,5	0,6	0,6	0,7
11		0,5	0,5	0,5	0,6	0,6
12		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
13		0,4	0,4	0,4	0,4	0,5
14		0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
15		0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

t ⁰ C		Nồng độ chất khô đo được (%)				
		10	15	20	25	30
16		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
17		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
18		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
19		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
20						
21	Cộng	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
22		0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
23		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
24		0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
25		0,3	0,4	0,4	0,4	0,4
26		0,4	0,4	0,5	0,5	0,5
27		0,5	0,5	0,6	0,6	0,6
28		0,6	0,6	0,6	0,7	0,7
29		0,6	0,7	0,7	0,8	0,8
30		0,8	0,8	0,8	0,9	0,9
31		0,8	0,9	0,9	1,0	1,0
32		0,9	1,0	1,0	1,1	1,1
33		1,0	1,1	1,1	1,1	1,2
34		1,1	1,2	1,2	1,2	1,3

- Chính máy về 0: kiểm tra máy với nước cất. Cho nước cất vào lăng kính, máy chỉ bằng 0 trên giải phân cách là máy đúng.

- Đo Bx với mẫu bia: Cho mẫu bia vào lăng kính, quan sát độ Bx của mẫu bia trên giải phân cách.

- Ghi nhiệt độ của mẫu bia.

8.1.5. Kết quả và nhận xét

- Nồng độ chất khô hòa tan sẽ bằng chỉ số tương ứng trên giải phân cách. Đơn vị đo là ⁰Bx hoặc %.

- Trong trường hợp nhiệt độ dịch khác 20⁰C, nên dùng phụ lục để hiệu chỉnh độ Bx đo được về nhiệt độ chuẩn 20⁰C.

* Ví dụ:

Nồng độ chất khô của mẫu bia đọc được trên chiết quang kế là 16⁰Bx hay 16%. Nhiệt độ dịch đo được là 25⁰C.

Tra bảng, có hệ số hiệu chỉnh nhiệt độ bằng 0,4, do đó nồng độ chất khô tương ứng ở nhiệt độ 20⁰C là: 16 + 0,4 = 16,4⁰Bx.

8.2. Xác định độ màu (phương pháp quang phổ)

8.2.1. Nguyên tắc

Đo độ hấp thụ của bia ở bước sóng 430nm. Độ màu của bia tính theo đơn vị EBC bằng độ hấp thụ nhân với hệ số pha loãng.

8.2.2. Hóa chất

- Nước cất

* Mẫu: Bia lon

8.2.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Máy quang phổ đo độ hấp thụ 430 nm

- Cuvette 5, 10 mm

- Bộ lọc màng 0,45 μ m

- Bột trợ lọc Kieselguhr (diatomit).

8.2.4. Các bước tiến hành

- Pha loãng mẫu (mẫu đã loại CO₂) để đo độ hấp thụ ở 430 nm nằm trong giới hạn của máy quang phổ. Có thể dùng cuvette 5 hay 10 mm để đo. Dùng cuvette 5 mm có ưu điểm nếu bia đậm màu không cần pha loãng.

- Mẫu được lọc bằng bộ lọc màng, nếu độ đục của mẫu pha loãng nhỏ hơn 1 đơn vị EBC thì có thể không lọc. Nếu cần có thể lọc bia bằng bột trợ lọc Kieselguhr (1g/l) trước khi lọc màng

- Ổn định máy với bước sóng 430nm. Chỉnh máy về 0,00 bằng nước cất trước khi đo mẫu.

- Tráng cuvette bằng dung dịch mẫu và đổ đầy dung dịch mẫu vào cuvette

- Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu.

8.2.5. Kết quả và nhận xét

Độ màu của bia được tính theo công thức :

$$\text{EBC} = A \cdot f \cdot 25$$

Trong đó :

- A : độ hấp thụ ở 430 nm trong cuvette 10mm

(nếu đo trong cuvette 5mm thì kết quả nhân thêm 2)

- f: : hệ số pha loãng .

8.3. Xác định độ đục

8.3.1. Nguyên tắc

Mẫu bia/nước giải khát đo độ đục phải được loại CO₂ và lọc.

Tiến hành đo độ đục của bia được đo ở 0⁰C. Mẫu được để trong bồn nước 60⁰C trong 48 giờ, sau đó làm nguội và giữ 0⁰C qua đêm, rồi đo độ đục.

8.3.2. Hóa chất

- Các dung dịch mẫu chuẩn có độ đục 0, 10, 500 FNU.

- Nước cất

8.3.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Thiết bị đo độ đục cầm tay MARTINI

- Tủ lạnh

- Nhiệt kế

- Bếp đun cách thủy
- Vải mềm sạch

8.3.4. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị mẫu và đo mẫu:
 - + Đo ngay mẫu trong chai hoặc phải chuyển mẫu vào chai thích hợp để đo, chú ý không được để không khí lọt vào mẫu.
 - + Giữ chai đứng thẳng, không làm khuấy động bìa trong chai trong bếp đun cách thủy ở nhiệt độ 60°C trong 48 giờ.
 - + Đặt các chai mẫu đã chuẩn bị trong tủ lạnh 0°C , để qua một đêm.
- Chuẩn máy với các dung dịch chuẩn:
 - + Nhấn phím ON/OFF để khởi động thiết bị.
 - + Nhấn phím CAL, màn hình sẽ xuất hiện CAL nhấp nháy.
 - + Nhấn phím CAL một lần nữa, màn hình sẽ xuất hiện ngày của quá trình chuẩn MM.DD nhấp nháy.
 - + Nhấn phím DATE để chuyển đổi ngày và tháng.
 - + Nhấn phím READ để thay đổi ngày.
 - + Nhấn phím CAL để xác nhận giá trị ngày.
 - + Khi màn hình LCD hiển thị “ZERO” nhấp nháy.
 - + Đưa cuvetete mẫu chuẩn 0 FNU vào buồng đo → nhấn phím CAL → màn hình sẽ hiển thị SIP nhấp nháy trong suốt quá trình đo → màn hình xuất hiện giá trị “10.00”.
 - + Đưa cuvetete mẫu chuẩn 10 FNU vào buồng đo → nhấn phím CAL → màn hình sẽ hiển thị SIP nhấp nháy trong suốt quá trình đo → màn hình xuất hiện giá trị “500”.
 - + Đưa cuvetete mẫu chuẩn 500 FNU vào buồng đo → nhấn phím CAL → màn hình sẽ hiển thị SIP nhấp nháy trong suốt quá trình đo.
 - + Thiết bị đã được hiệu chuẩn, sẵn sàng thực hiện các phép đo.
- Đo độ đục của mẫu:
 - + Tiến hành đo độ đục ở 0°C ban đầu ngay trong buổi sáng.
 - + Nhấn phím ON/OFF để khởi động thiết bị.
 - + Khi màn hình LCD hiển thị “----” cho biết thiết bị đã sẵn sàng hoạt động.
 - + Cho mẫu vào cuvetete sạch và khô. Đặt nắp cuvetete lại.
 - + Lau sạch bề mặt cuvetete bằng vải mềm để loại bỏ dầu vân tay trên thành cuvetete.
 - + Đưa cuvetete vào vị trí buồng đo của máy, chú ý để vạch dấu trên nắp cuvetete trùng với vạch trên máy.
 - + Nhấn phím READ, màn hình sẽ hiển thị SIP nhấp nháy.
 - + Giá trị độ đục của mẫu đang đo sẽ hiển thị trên màn hình với đơn vị đo là FNU.

8.3.5. Kết quả và nhận xét

Đọc giá trị độ đục của mẫu trên màn hình với đơn vị đo là FNU.

8.4. Xác định độ chua (Xác định bằng phương pháp đo pH)

8.4.1. Nguyên tắc

Độ acid toàn phần bao gồm các acid có thể định lượng bằng dung dịch kiềm chuẩn. Những acid này chủ yếu là các acid hữu cơ như acid axetic, malic, citric, tartaric, lactic... Các acid CO_2 và SO_2 dưới thể tự do hay kết hợp đều không tính trong độ chua thực phẩm. Do đó, bia, nước ngọt, hoa quả... có chứa CO_2 hoặc SO_2 đều được loại trừ trước lúc chuẩn độ để xác định độ acid.

Trong sản xuất bia, độ chua được biểu thị bằng số ml dung dịch NaOH 1N cần thiết để trung hoà lượng acid tự do chứa trong 100ml dịch bia.

Lượng acid tổng số có trong bia là tổng lượng acid có thể định lượng bằng dung dịch kiềm chuẩn để đưa pH của dịch bia tới 8,2 trong đó không tính đến acid carbonic.

4.2. Hóa chất

- Dung dịch NaOH 0,1N hoặc KOH 0,1N.

- Dung dịch đệm pH = 7: hòa tan 107,3 g KH_2PO_4 vào 500ml dung dịch NaOH 1N, định mức tới 1 lít bằng nước cất.

8.4.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Máy đo pH

- Bình tam giác 500–1000ml

8.4.4. Các bước tiến hành

- Lấy 150–200ml bia cho vào bình tam giác 500–1000ml, lắc ở nhiệt độ 20°C cho đến khi ngừng tách khí. Lọc bia qua giấy lọc.

- Đưa nhẹ nhàng đầu cực đo vào dung dịch đệm pH = 7, nhiệt độ 20°C , chỉnh máy sao cho pH = 7. Lấy đầu cực ra và dùng bình tia rửa cẩn thận.

- Lấy chính xác 50ml dịch bia đã tách CO_2 vào bình tam giác 150 ml, đưa nhẹ nhàng đầu cực đo vào và cho dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn tới khi đạt pH = 8,2 ở nhiệt độ 20°C , lắc nhẹ trong khi chuẩn độ.

8.4.5. Kết quả và nhận xét

Độ acid được tính theo công thức:

$$Ax = 2.n \quad (\text{ml}/100 \text{ ml bia})$$

Trong đó: - n : số ml dung dịch NaOH 0,1N;

- 2 : hệ số quy chuẩn cho 100 ml bia.

9. XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ TIÊU LÝ HÓA CỦA BỘT MỖ

9.1. Xác định độ ẩm (Phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi)

9.1.1. Nguyên tắc

Dựa vào khả năng tách rời hơi nước và các chất dễ bay hơi khỏi mẫu trong cùng một áp suất và nhiệt độ. Dùng sức nóng làm bay hơi nước trong sản phẩm đến khối lượng không đổi. Cân sản phẩm trước và sau khi sấy, từ đó tính được độ ẩm của sản phẩm.

9.1.2. Nguyên liệu/hóa chất

- Nguyên liệu: bột mỳ

9.1.3. Trang thiết bị, dụng cụ:

- Tủ sấy điều chỉnh được nhiệt độ $105 \div 110^{\circ}\text{C}$
- Tủ hút
- Cân phân tích
- Chén sấy có nắp
- Bình hút ẩm
- Kẹp an toàn, găng tay
- Cối, chày sứ, muỗng nhựa

9.1.4. Các bước tiến hành:

- Sấy chén: Chén sấy được sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ bằng nhiệt độ sấy mẫu thử. Để nguội trong bình hút ẩm rồi đem cân (chính xác đến 0,0001g).

- Cho mẫu vào chén sấy : Mẫu được đem đi nghiền sau đó cân khoảng $2 \div 10\text{g}$ mẫu vào trong chén sấy (chính xác đến 0,0001g).

- Sấy mẫu: Mở nắp chén sấy, cho cả nắp và chén sấy đựng mẫu thử vào tủ sấy ở nhiệt độ 105°C . Thời gian sấy ít nhất là 2 giờ. Sau đó, lấy chén sấy ra và cho ngay vào bình hút ẩm (khoảng $25 \div 30$ phút) rồi đem cân. Tiếp tục sấy chén và sản phẩm trong $30 \div 60$ phút, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm, và cân. Làm như vậy cho đến khi đạt tới khối lượng không đổi. Ghi kết quả của lần cân cuối.

9.1.5. Kết quả và nhận xét

Độ ẩm của sản phẩm tính bằng (%) theo công thức:

$$w = \frac{(g_1 - g_2)}{(g_1 - g)} \cdot 100$$

Trong đó:

g: Khối lượng chén sấy không (g)

g₁: Khối lượng chén sấy có mẫu thử trước khi sấy (g)

g₂: Khối lượng chén sấy có mẫu thử sau khi sấy (g)

Chú ý:

- Chén sấy phải có kích thước thích hợp để sản phẩm thử đựng trong chén thành một lớp không dày quá 5mm.

- Sấy đến khối lượng không đổi nghĩa là sấy đến khi kết quả giữa hai lần cân liên tiếp bằng nhau hoặc chênh nhau không quá 0,005g cho mỗi gam chất thử.

- Đối với một số sản phẩm khó sấy khô, để rút ngắn thời gian sấy cần nghiền nhỏ hay thái mỏng, có thể sử dụng nhiệt độ sấy cao đến 130°C hoặc trộn lẫn với cát khô, sạch (đã được xử lý bằng HCl) trong khi sấy.

- Đối với những sản phẩm có nhiều nước thì phải làm bốc hơi trên nồi cách thủy đến kiệt nước sau đó mới cho vào tủ sấy.

- Muốn tránh sự phân hủy mẫu thử do nhiệt độ cao, có thể sấy mẫu thử trong chân không ở nhiệt độ khoảng $50 \div 80^{\circ}\text{C}$.

9.2. Xác định độ chua

9.2.1. Nguyên tắc

Xác định và điều chỉnh độ acid của bột mỳ theo yêu cầu để đánh giá chất lượng của bột mỳ và tiếp tục thực hiện các công đoạn tiếp theo.

9.2.2. Nguyên liệu, hóa chất

- Bột mỳ

9.2.3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Cân phân tích
- Máy đo pH mẫu rắn
- Đũa thủy tinh
- Bát sứ lớn

9.2.4. Các bước tiến hành

- Bình tam giác 250 ml: cân 5 gam bột và bổ sung 50 ml nước cất.
- Lắc đều bình tam giác.
- Bổ sung 4÷5 giọt dung dịch phenolftalein 1 %, lắc đều
- Buret: dung dịch NaOH 0,1N.
- Chuẩn bằng dung dịch NaOH 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 1 phút.
- Đọc thể tích dung dịch NaOH 0,1N tiêu tốn trên buret.
- Làm lặp lại từ 2-3 lần lấy kết quả trung bình.

9.2.5. Kết quả và nhận xét

Độ chua là số ml dung dịch NaOH 0,1N tác dụng hết với lượng acid có trong 100g bột mỳ.

$$X = \frac{V_{NaOH} \cdot 100}{G} \quad (^{\circ})$$

9.3. Xác định chất lượng gluten

9.3.1. Nguyên tắc

Gluten là thành phần chủ yếu của bột mỳ. Gluten gồm hai chất gliadin và glutenin. Hai chất này có tính chất dính cao, không tan trong nước mà khi nhào với nước, chúng trương nở và tạo thành khối dẻo đàn hồi. Các tính chất này là cơ sở để xác định hàm lượng gluten.

Dùng máy Minifra Scan-Tplus để đo hàm lượng gluten có trong mẫu bột mỳ.

Máy Minifra Scan-Tplus dựa trên cơ sở đo quang phổ trong phạm vi hồng ngoại gần để xác định hàm lượng gluten.



Hình 1. Máy Minifra Scan-Tplus

9.3.2. Nguyên liệu

- Bột mỳ
- Dung dịch NaCl 20g/l
- Dung dịch iodine trong iodua kali (Liugol)

9.3.3. Thiết bị, dụng cụ

- Thiết bị: máy Minifra Scan-Tplus
- Chén sứ
- Dụng cụ chứa mẫu
- Cốc thủy tinh 250ml
- Tấm kính thủy tinh
- Cân phân tích điện tử
- Tủ sấy
- Thước đo

9.4.4. Các bước tiến hành

9.4.4.1. Phương pháp đo máy

- Cho mẫu vào dụng cụ chứa mẫu
- Đặt dụng cụ chứa mẫu vào máy, đóng nắp
- Mở máy
- Chọn chế độ đo gluten
- Ấn nút đo và lệnh in
- Đọc kết quả.

9.4.4.2. Phương pháp đo thủ công

* Xác định hàm lượng gluten ướt :

- Cân 25g bột mỳ cho vào chén sứ. Nhào mẫu với 15ml nước ở nhiệt độ thường, dùng đũa trộn đều cho đến khi thành một khối đồng nhất. Dùng dao vét các mảnh bột dính vào chén, vê khối bột thành hình cầu, cho vào chén và đập bằng tấm kính.

- Để yên 20 phút ở nhiệt độ phòng. Lấy cục bột rửa dưới tia nước nhỏ. Tay trái cầm cục bột, nắm các ngón tay lại và đưa vào vòi nước, tay phải điều chỉnh dòng nước chảy nhẹ. Khi gluten trở thành đàn hồi thì tăng tốc độ dòng nước lên cho đến khi gluten sạch hết bột.

- Kiểm tra quá trình rửa bằng cách sử dụng một trong các cách sau:

+ Cho vào nước vắt từ gluten một vài giọt dung dịch iodine trong iodua kali (0,2g iodua kali và 0,1g iodine tinh thể hòa tan trong 100 ml nước), dung dịch không có màu xanh là đã rửa hết tinh bột

+ Nhỏ 2÷3 giọt nước vắt từ gluten vào một cốc nước trong, thấy nước không đục là được.

- Ép khô khối gluten: Đặt khối gluten giữa 2 lòng bàn tay ép mạnh, thỉnh thoảng thấm tay bằng khăn khô.

- Cân gluten đã ép khô với độ chính xác đến 0,01g. Khối lượng cân được là khối lượng gluten ướt của mẫu.

* Xác định hàm lượng gluten khô:

- Sấy khối gluten ở nhiệt độ 105⁰C, thời gian 1 giờ sấy đến khối lượng không đổi. Cân lượng gluten vừa sấy được M₂.

* Đánh giá chất lượng gluten:

Chất lượng gluten ướt được đặc trưng bằng màu sắc, độ căng, độ đàn hồi

- Nhận xét màu sắc trước khi cân gluten

Màu sắc được đặc trưng bằng các mức độ sau: trắng ngà, xám, sẫm...

- Xác định độ căng

Sau khi xác định độ màu, cân 4g gluten. Vê thành hình cầu rồi ngâm trong chậu nước có nhiệt độ 16-20°C trong 15 phút. Sau đó dùng hai tay kéo dài khối gluten trên thước chia milimet cho đến khi đứt, tính chiều dài từ lúc đứt. Thời gian kéo 10 giây. Khi kéo không được xoắn sợi gluten.

- Đánh giá độ đàn hồi

Dùng khối lượng còn lại sau khi đánh giá độ căng. Dùng hai tay kéo dài miếng gluten trên thước khoảng 2 cm rồi buông ra, hoặc dùng ngón tay trở và ngón tay trái bóp miếng gluten.

- Màu sắc gluten :
 - + Màu trắng ngà hoặc màu vàng xám : gluten tốt
 - + Màu xám : gluten xấu
- Độ căng :
 - + Loại gluten có độ căng kém : 8cm thì đứt
 - + Loại gluten có độ căng trung bình : 15cm thì đứt
 - + Loại gluten có độ căng cao : 20cm thì đứt
- Gluten loại 1: Độ dẻo tốt độ dẫn dài khá hoặc trung bình
- Gluten loại 2: Độ dẻo tốt độ dẫn dài kém
hoặc độ dẻo vừa độ dẫn dài trung bình
- Gluten loại 3: Độ dẻo kém không dẫn dài hoặc dẫn dài kém

9.4.5. Kết quả và nhận xét

9.4.5.1. Phương pháp đo máy

- Kết quả được đọc trên máy hay trên giấy in
- Nhận xét đã đo của mẫu.

9.4.5.2. Phương pháp đo thủ công

Hàm lượng gluten ướt tính bằng (%) theo công thức :

$$X = \frac{M_1 \cdot 100}{M_0}$$

Trong đó: M_0 : Lượng cân mẫu (g)

M_1 : Khối lượng gluten ướt (g)

Hàm lượng gluten khô tính bằng (%) theo công thức

$$X = \frac{M_2 \cdot 100}{M_0}$$

Trong đó: - M_0 : Lượng cân mẫu (g)

- M_2 : Khối lượng gluten khô (g)

B. Câu hỏi bài tập thực hành

1. Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi của mẫu xác định.
2. Xác định độ acid, kiềm, hàm lượng NaCl của mẫu xác định.
3. Xác định hàm lượng Nitơ toàn phần bằng phương pháp Kjeldahl của mẫu xác định.

4. Xác định chất béo bằng phương pháp Soxhlet của mẫu xác định
5. Xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp Bertrand, Metyl len xanh của mẫu xác định
6. Xác định hàm lượng urea của mẫu xác định
7. Xác định hàn the của mẫu xác định
8. Xác định một số chỉ tiêu lý hóa của bia
9. Xác định một số chỉ tiêu lý hóa của bột mỳ
10. Phân tích nguyên nhân sai số trong quá trình xác định chỉ tiêu lý hóa

C. Ghi nhớ

- Nguyên tắc, quy trình phân tích, đánh giá kết quả một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm;
- Trình tự các bước tiến hành phân tích một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm.
- Xác định một số chỉ tiêu lý hóa của thực phẩm

BÀI 08. PHÂN TÍCH CHỈ TIÊU VI SINH CỦA THỰC PHẨM

Mã bài: 08

Giới thiệu:

Hiện nay, vấn đề ngộ độc hoặc các bệnh có nguồn gốc từ thực phẩm, đặc biệt là từ vi sinh vật trong thực phẩm đang là một vấn đề nóng bỏng, thu hút sự quan tâm của cộng đồng xã hội. Mặc dù nhà nước đã có nhiều cố gắng trong việc tăng cường quản lý về chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm, ban hành các văn bản pháp quy về vấn đề này nhưng tình trạng này vẫn còn phổ biến. Do đó, việc đánh giá, kiểm soát chất lượng an toàn thực phẩm là một khâu hết sức quan trọng đang được chú trọng hiện nay. Trong đó, chỉ tiêu vi sinh là một chỉ tiêu quan trọng trong việc đánh giá chất lượng sản phẩm.



Mục tiêu:

- Trình bày được nguyên tắc, quy trình phân tích, tính kết quả của một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm;
- Nêu được trình tự các bước tiến hành phân tích một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm.
- Thực hiện thành thạo thao tác xác định được một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức tiết kiệm hóa chất, bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh tại nơi thực hành;
- Tuân thủ các quy tắc đảm bảo an toàn lao động tại nơi thực hành.

A. Nội dung:

1. CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH TÍNH, ĐỊNH LƯỢNG VI SINH THỰC PHẨM

1.1. Các phương pháp định tính vi sinh thực phẩm

1.1.1. Phương pháp quan sát trên kính hiển vi

a. Nguyên tắc

Đây là phương pháp đơn giản, cho phép quan sát được hình dạng tế bào, khả năng di động và phương thức sinh sản của vi sinh vật dưới kính hiển vi các loại: kính hiển vi nền sáng, kính hiển vi nền đen, kính hiển vi với thiết bị tương phản pha, kính hiển vi huỳnh quang.

b. Dụng cụ

- Phiến kính (lame) có kích thước 76x26x1,2mm
- Lá kính (lamelle) hình vuông cạnh 16÷18mm với chiều dày tối đa 0,2mm.
- Dụng cụ cấy: que cấy thẳng hoặc que cấy đầu tròn.

c. Tiến hành

- Chuẩn bị tiêu bản giọt ép:

Nhỏ một giọt nước cất vô trùng và một giọt mẫu trên phiến kính khô. Khi sử dụng mẫu có nồng độ tế bào nhỏ, không cần cho thêm giọt nước cất lên phiến kính. Cũng có thể cho một giọt KOH 5% để tách các cấu tử protein nếu có trong mẫu và cho phép phân biệt rõ hơn các tế bào vi sinh vật. Dùng lá kính đặt lên, dàn đều mẫu tránh để có bọt khí. Với cách chuẩn bị như thế này

cần soi ngay vì nước rất dễ bay hơi. Có thể kéo dài thời gian sử dụng bằng cách bôi vaselin hay parafin xung quanh mép lá kính cho giọt dịch không bị khô.

- Chuẩn bị tiêu bản giọt treo:

Giọt mẫu được lấy bằng que cấy đầu tròn hay bằng que cấy thẳng được chấm lên lá kính. Lá kính này được đặt lên phiến kính đặc biệt có một chỗ lõm hình tròn ở giữa. Giọt mẫu này phải treo lơ lửng, không được tiếp xúc với các mép và đáy của chỗ lõm hình tròn trên phiến kính. Bôi vaselin hay parafin xung quanh mép lá kính. Giọt treo sẽ được bịt kín trong buồng kín, vì vậy cho phép quan sát được đối tượng nghiên cứu trong vài ngày. Dùng phiến kính đặc biệt có phần lõm hình tròn ở giữa.

Thận trọng xoay ngược lá kính cho giọt canh khuẩn quay xuống phía dưới rồi đặt lên phần lõm của phiến kính. *Chú ý:* không để giọt canh khuẩn lan rộng hay chạm vào đáy của phần lõm. Đặt tiêu bản lên kính hiển vi và quan sát ở vật kính 10x hoặc 40x.

- Chuẩn bị tiêu bản vết khô:

Một giọt mẫu đặt lên phiến kính khô, sạch, không dính dầu mỡ. Dùng que cấy hay thành bên của lá kính dàn càng mỏng càng tốt. Để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng hoặc có thể hơi nhẹ trên đèn cồn. Tiêu bản này thường dùng khi nhuộm màu bên trong tế bào.

d. Tính kết quả

Dựa trên hình ảnh quan sát được có thể xác định định tính về vi sinh vật như: hình dạng tế bào, khả năng nhuộm bào tử, nhuộm Gram...

1.1.2. Phương pháp lọc màng

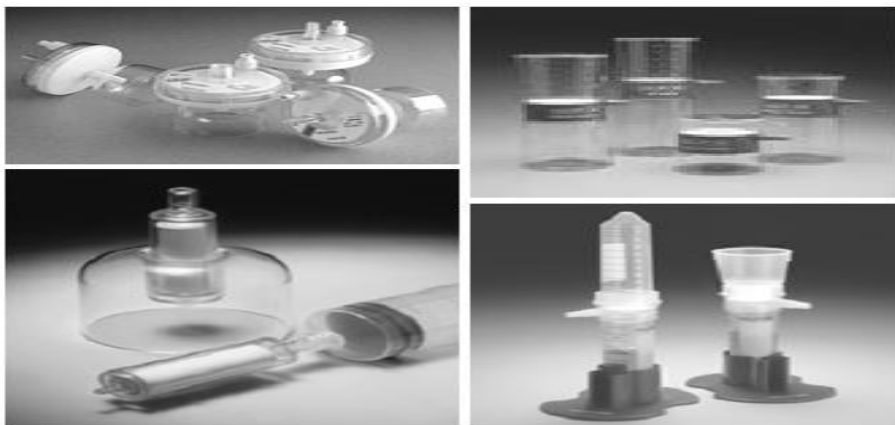
Dùng để xác định chất lượng và số lượng vi sinh vật (vi khuẩn, nấm men, nấm mốc) có trong thể tích dịch khá lớn, đặc biệt là kiểm tra vi sinh trong quá trình sản xuất.

a. Nguyên tắc

Tăng số lượng vi sinh vật nhờ lọc trên màng lọc có kích thước lỗ lọc nhỏ hơn kích thước của vi sinh vật cần phát hiện. Có thể cố định và nhuộm màu tế bào ngay trên màng lọc. Màng lọc sấy khô sẽ trong suốt nếu được xử lý bằng rượu benzylic hoặc dầu thông, dầu quế.

b. Tiến hành

- Chuẩn bị hệ thống lọc chân không:



Hình 8.1. Các loại màng lọc vô trùng

Màng lọc phải được hấp vô trùng.

Màng lọc có đường kính 47÷50mm, có kích thước lỗ 1,2μm để tách nấm men và nấm mốc hoặc 0,45μm để lọc vi khuẩn loại lớn (hình cầu, cầu khuẩn, hình que) hoặc 0,2μm để lọc vi

khuẩn loại nhỏ hoặc bào tử vi khuẩn. Bình chân không $V=1000\text{ml}$. Nên dùng màng lọc có kích thước lỗ $12\mu\text{m}$ để lọc sơ bộ nếu thấy cần.

- Lọc:

Lọc sơ bộ nếu dung dịch có nhiều cặn hoặc vẩn đục.

Mẫu cần đưa vào lọc một cách vô trùng và lượng mang đi lọc phụ thuộc vào nồng độ vi sinh vật có trong mẫu (*Vi dụ*: bia chưa lọc lấy 1ml, bia đã lọc rồi lấy $50\div 200\text{ml}$, nước máy lấy 500ml).

- Cố định tế bào:

Cần phải cố định các tế bào vi sinh vật trước khi nhuộm màu để tránh rửa trôi tế bào.

Ngay sau khi lọc xong, làm nóng màng ở nhiệt độ $50\div 60^{\circ}\text{C}$ trong 20 phút hoặc để ở nhiệt độ phòng $1\div 2$ giờ để làm khô màng lọc.

- Nhuộm màu:

Đặt màng lọc vào hệ thống lọc và ngâm trong dung dịch xanh methylen trong thời gian 15 phút, sau đó rửa bằng nước cất cho tới khi nước rửa không còn màu xanh.

Màng lọc đã nhuộm được sấy ở nhiệt độ $50\div 60^{\circ}\text{C}$ trong 20 phút hoặc để ở nhiệt độ phòng $1\div 2$ giờ để làm khô màng lọc.

- Làm mất màu màng lọc và soi kính hiển vi:

Màng lọc đã sấy khô vẫn có thể còn màu, có thể làm cho màng mất màu và trở nên trong suốt nếu rửa bằng dung môi hữu cơ. Để quan sát tốt hơn khi soi kính hiển vi nên chọn dung môi có độ nhớt không thấp quá và có chỉ số khúc xạ thích hợp. Trong thực tế thì thường dùng các dung môi như dầu thông, dầu quế hay rượu benzylic.

Cho một giọt dung môi lên phiến kính.

Đặt một miếng màng lọc đã nhuộm màu có đường kính khoảng 6mm lên phiến kính.

Dùng lá kính đẩy lên và tránh không để có bọt khí. Màng lọc trở nên trong suốt nhờ dung môi.

Quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại $600\div 1000$ lần.

- Bảo quản mẫu làm tiêu bản chuẩn:

Sau khi quan sát xong, tiêu bản có thể được bảo quản bằng cách cho vào dầu (thường dùng dầu cọ Canada) và đóng gói niêm phong.

c. Tính kết quả

Quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi cho phép nhìn thấy rõ hình thái các tế bào và nhìn thấy được sự khác nhau giữa nấm men, nấm mốc, cầu khuẩn, trực khuẩn. Tuy nhiên phương pháp này không cho phép biết được trước khi lọc tế bào này còn sống hay chết và rất dễ bị nhầm lẫn các vết đen hay cặn với tế bào vi sinh vật.

1.1.3. Phương pháp quan sát hình thái khuẩn lạc

a. Nguyên tắc

Sau khi nuôi cấy, quan sát hình thái của khuẩn lạc trên môi trường rắn từ các phía để định tính vi sinh vật.

b. Tiến hành

Lấy $15\div 20\text{ml}$ môi trường thạch vô trùng, để nguội đến 50°C rồi đổ vào đĩa petri (thao tác vô trùng). Nếu có nước ngưng tụ trên nắp đĩa cần úp ngược xuống để vào tủ ẩm $30\div 37^{\circ}\text{C}$ để làm khô mặt thạch.

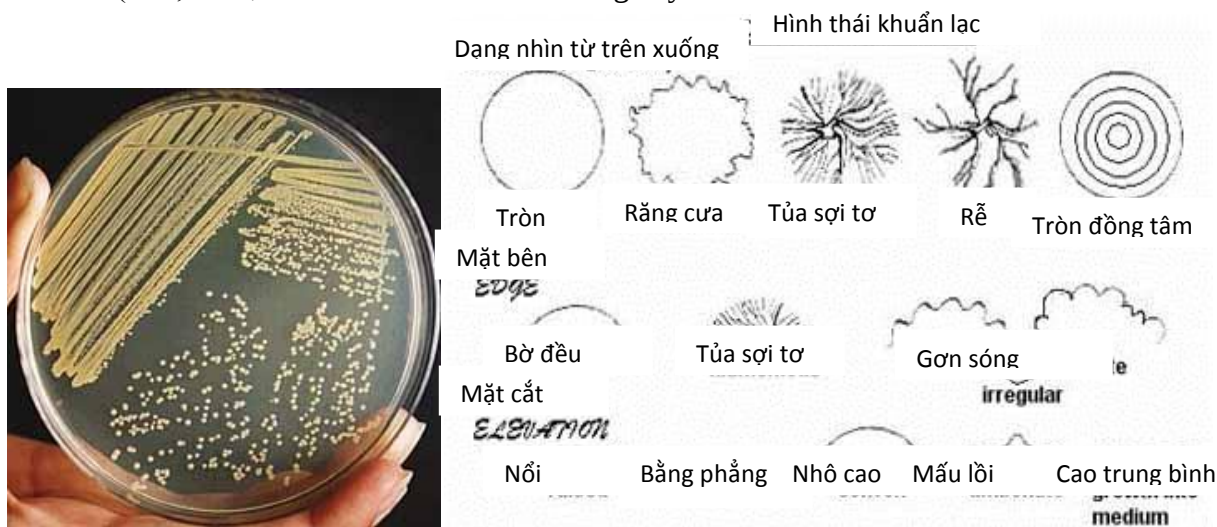
Lấy một vòng que cấy gạt 3÷4 lần trên mặt thạch ở một góc. Quay đĩa thạch sang hướng khác và ria cấy từ một vạch thành 3÷4 đường khác sao cho không trùng với các đường trước. Lặp lại theo một hướng thứ ba để pha loãng hơn nữa phần vi khuẩn dính trên que cấy.

* *Chú ý:* không nhắc tay lên và không thay đổi hướng của vòng que cấy.

Đặt vào nhiệt độ thích hợp trong 1÷2 ngày để chọn ra các khuẩn lạc mọc riêng rẽ.

3.3.3. Kết quả

Tiến hành quan sát các khuẩn lạc này từ các phía (từ trên xuống, từ bên cạnh), chú ý về kích thước, hình dạng khuẩn lạc, hình dạng mép, bề mặt, độ dày, có núm hay không, độ trong, màu sắc (trên, dưới, có khuếch tán ra môi trường hay không)



Hình 8.2. Cấy ria tế bào để tách khuẩn lạc đơn và các dạng khuẩn lạc thường gặp.

1.1.4. Phương pháp nuôi cấy trong môi trường lỏng

a. Nguyên tắc

Lấy mẫu trong điều kiện vô trùng và cấy ngay vào môi trường thích hợp đã khử trùng. Sau một thời gian nuôi cấy, số lượng vi sinh vật có trong mẫu cần kiểm nghiệm tăng lên, như vậy dễ phát hiện sự có mặt của vi sinh vật bằng cách quan sát mức độ đục, sự tạo khí, màu, mùi của dịch nuôi cấy.

b. Tiến hành

Đưa mẫu cần kiểm nghiệm vào môi trường nuôi cấy đặc hiệu cho từng chủng vi sinh vật trong điều kiện hoàn toàn vô trùng.

Đặt môi trường nuôi cấy trong tủ ấm có nhiệt độ 25÷37°C, trong 1÷6 ngày ở điều kiện hiếu khí hoặc yếm khí tùy vào loại vi sinh vật cần kiểm nghiệm.

Trong thời gian nuôi cấy quan sát:

- Độ đục môi trường
- Sự tạo khí
- Sự thay đổi màu
- Có mùi lạ

c. Tính kết quả

Kết luận trong mẫu kiểm nghiệm có loại vi sinh vật cần xác định nếu quan sát thấy có một hay nhiều các biểu hiện sau:

- Có khí tạo thành
- Môi trường bị đục, mức độ đục ít hay nhiều
- Màu dịch có thay đổi hay không, cường độ màu như thế nào
- Có mùi lạ không, mùi gì (nếu có thể xác định được)

1.2. Các phương pháp định lượng vi sinh thực phẩm

1.2.1. Phương pháp xác định khối lượng khô

a. Nguyên tắc

Thu hồi nấm men có trong dịch bằng máy ly tâm siêu tốc, rửa để tách bỏ các chất hữu cơ bám trên bề mặt tế bào và sau đó sấy tới trọng lượng không đổi.

b. Tiến hành

Lấy một lượng dịch tùy ý có chứa khoảng 20÷200mg nấm men khô, cho vào ống ly tâm và ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút, thời gian là 15 phút.

Gạn bỏ nước trong và cho dung dịch NH_3 và cho nước cất với thể tích tương tự vào, khuấy đều và ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút trong thời gian là 15 phút.

Gạn bỏ nước trong và dùng cùn để chuyển toàn bộ phần lắng ở dưới đáy sang hộp nhôm dùng để sấy. Cho bay hơi bớt trên nồi cách thủy.

Sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C trong 24 giờ. Làm nguội trong bình hút ẩm và cân.

c. Tính kết quả

Biểu thị theo % chất khô nấm men hoặc mg/ml, với một chữ số thập phân.

1.2.2. Phương pháp đo độ đục

a. Nguyên tắc

Các tế bào vi sinh vật ở dạng huyền phù được ly tâm, sau đó được hòa tan vào trong nước. Đo độ đục của dịch bằng máy đo độ đục hoặc máy so màu.

b. Tiến hành

Lấy 10ml mẫu cho vào ống ly tâm có chia vạch và ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút, thời gian là 15 phút.

Gạn bỏ dịch và dùng 8ml nước để chuyển cặn nấm men sang cuvet.

Cho thêm 0,1ml dung dịch NH_3 và cho thêm nước cất để đủ 10ml.

Khuấy đều dịch huyền phù và đo độ đục trên máy.

* **Chú ý:** Để có kết quả chính xác thì mẫu kiểm nghiệm cần chứa 0,2÷5 mg/ml tính theo trọng lượng nấm men khô (khoảng $3.10^6 \div 75.10^6$ tế bào/ml).

c. Tính kết quả

Lượng tế bào nấm men, có thể biểu diễn bằng giá trị mật độ quang (OD) đo được hoặc có thể xây dựng đường cong tiêu chuẩn, biểu thị mối liên quan giữa độ đục với nồng độ tế bào, từ đó có thể biết được lượng tế bào/ml dịch.

* **Chú ý:** Nấm men rất kết bông thường tạo thành từng mảng trên bề mặt dịch, gây khó khăn cho quá trình lắng và ly tâm. Cho dung dịch NH_3 có mục đích làm giảm khả năng kết bông của nấm men.

1.2.3. Phương pháp đếm trực tiếp số lượng tế bào vi sinh vật

1.2.3.1. Đếm bằng buồng đếm

a. Nguyên tắc

Dùng pipet lấy một giọt mẫu cần xác định cho vào khe hở giữa buồng đếm và lá kính. Đếm số tế bào vi sinh vật dưới kính hiển vi.

b. Dụng cụ, thiết bị

- Lá kính hình vuông 22 x 22 mm

- Kính hiển vi nền sáng

- Buồng đếm: Có nhiều buồng đếm khác nhau phù hợp với từng thể tích và kích thước của từng nhóm vi sinh vật. Buồng đếm hồng cầu Petroff-Hauser để đếm vi khuẩn, buồng đếm Holber sử dụng cho mẫu nước và các mẫu khác, buồng đếm Malassez hoặc buồng đếm Thoma. Buồng đếm là những phiến kính dày 2÷3 mm, trên bề mặt được vạch sẵn những ô vuông và sau khi đã cho mẫu lên thì được phủ bằng một lá kính mỏng, phẳng. Buồng đếm này có thể chứa một thể tích mẫu nhất định.

c. Tiến hành

- Pha loãng mẫu:

Mẫu được pha loãng sao cho khi quan sát ở mỗi ô vuông nhỏ có từ 5÷10 tế bào vi sinh vật bằng dung dịch đã được lọc có 0,1% peptone; 0,1% laurylsulphate; 0,01% methyl blue.

- Chuyển mẫu lên phiến kính:

Dùng pipet lấy rất nhanh 1 giọt mẫu để nhỏ lên buồng đếm, tránh không để tràn ra ngoài, rồi phủ lên một lá kính phẳng và để yên 5 phút để ổn định vị trí các tế bào trong buồng đếm.

- Soi dưới kính hiển vi:

Chỉnh kính hiển vi, độ phóng đại khoảng 500 lần để thấy rõ được 1 ô lớn hình chữ nhật chứa 20 ô vuông nhỏ trong đó (nếu dùng buồng đếm Malassez) hoặc 1 ô vuông lớn hình vuông chứa 16 ô nhỏ trong đó (nếu dùng buồng đếm Thoma). Đếm tất cả số tế bào có trong trường quan sát (50÷100 ô ngẫu nhiên).

Số lượng tế bào tốt nhất là nằm trong khoảng 120÷200 trong một ô lớn. Nếu nồng độ tế bào quá lớn (lớn hơn 200 tế bào trong một ô lớn) thì nên pha loãng tiếp và nên chú ý tránh để tế bào vi sinh vật lắng xuống đáy trong thời gian lấy mẫu.

* *Chú ý:* Mẫu cần được xác định ngay, không quá 30 phút kể từ khi lấy mẫu.

d. Kết quả

Số lượng tế bào trong 1ml mẫu được tính theo công thức:

$$X = \frac{\text{Số lượng tế bào vi sinh vật trong tất cả các ô đếm}}{\text{Số ô đếm}} \cdot 20000 \cdot \text{Hệ số pha loãng mẫu}$$

Lặp lại hai lần hay nhiều hơn để lấy giá trị đếm số trung bình. Đối với các vi sinh vật tụ thành từng cụm, không thể phân biệt từng tế bào thì mỗi cụm xem như là một tế bào.

Phương pháp này được ứng dụng đếm số tế bào nấm men là chính, với vi khuẩn do kích thước quá nhỏ bé nên khó đếm hơn so với nấm men.

Phương pháp có ưu điểm là cho phép xác định được số lượng vi sinh vật nhanh chóng với kết quả cao nhất. Hạn chế là không phân biệt được tế bào sống và chết, giữa tế bào vi sinh vật với các cặn trong mẫu, không cho phép tìm hiểu các đặc điểm khác của vi sinh vật.

1.2.3.2. Nhuộm xanh methylen

Phương pháp này cho phép xác định số tế bào vi sinh vật sống hay chết có trong mẫu kiểm nghiệm.

a. Nguyên tắc

Các tế bào sống chứa các enzyme có khả năng chuyển xanh methylen thành chất không màu. Khi ngâm tế bào vào dung dịch xanh methylen thì chất này đi qua màng tế bào và các enzyme của tế bào sống làm mất màu xanh. Các tế bào chết thì các enzyme không còn hoạt động nên không thể làm mất màu xanh methylen, do đó các tế bào này bị nhuộm màu xanh.

b. Dụng cụ, thiết bị, hóa chất

- Buồng đếm
- Kính hiển vi nền sáng
- $C_6H_7Na.2H_2O$ (citrate natri)
- Lá kính hình vuông 22x22 mm
- Nước cất vô trùng đã qua lọc
- Dung dịch xanh methylen

c. Tiến hành

- Pha loãng mẫu:

Trộn đều dung dịch xanh methylen với mẫu (cho một giọt dung dịch xanh methylen và một giọt mẫu). Pha loãng sao cho nồng độ tế bào vi sinh vật nằm trong khoảng 40÷60 tế bào trên trường quan sát. Sử dụng độ phóng đại 600 lần.

- Đếm:

Đếm khoảng 1000 tế bào, với các chồi có kích thước lớn hơn $\frac{1}{2}$ kích thước tế bào mẹ được coi là một tế bào.

d. Kết quả

Biểu thị số lượng tế bào sống theo % so với tổng số tế bào có trong mẫu.

1.2.4. Phương pháp đếm khuẩn lạc

1.2.4.1. Nuôi cấy trong hoặc trên môi trường thạch

Phương pháp này cho phép phát hiện những tế bào vi sinh vật còn sống có trong mẫu (ở cả dạng rắn và dạng lỏng). Mặc dù đây không phải là một phương pháp đếm vi sinh vật một cách nhanh chóng nhưng nó thường được dùng như là một phương pháp chuẩn để xác định số lượng vi sinh vật trong thực phẩm.

a. Nguyên tắc

Cấy chính xác một thể tích mẫu (hoặc dịch pha loãng) vào trong hoặc lên trên bề mặt môi trường thạch. Từ mỗi độ pha loãng cần cấy lặp lại ít nhất là 2 hộp và mỗi mẫu cần làm ít nhất 2 độ pha loãng liên tiếp để làm sao trên mỗi hộp có từ 30÷300 khuẩn lạc. Nuôi cấy trong điều kiện thích hợp cho các vi sinh vật phát triển, sau đó đếm số lượng các khuẩn lạc mọc lên. Có thể coi mỗi khuẩn lạc là kết quả của sự phát triển từ một tế bào.

b. Tiến hành

- Chuẩn bị dụng cụ khử trùng
- Chuẩn bị môi trường thích hợp và dịch pha loãng khử trùng
- Pha loãng mẫu đến nồng độ cần thiết
- Cấy mẫu:

+ Cấy trong môi trường thạch đổ đĩa:

Đưa một cách vô trùng 1ml mẫu đã pha loãng đến nồng độ cần thiết vào đĩa petri vô trùng.

Rót khoảng 15÷18 ml môi trường thạch đã hóa lỏng trên nồi cách thủy (nhiệt độ khoảng 45⁰C) vào mỗi đĩa đã có mẫu. Mỗi mẫu cần làm ít nhất 2 độ pha loãng liên tiếp và từ mỗi độ pha loãng cần cấy lặp lại ít nhất là 2 đĩa.

Trộn theo kỹ thuật được chuẩn hóa (lắc đĩa theo chiều thuận và ngược kim đồng hồ khoảng 5-6 lần). Đĩa được xếp trên mặt phẳng ngang cho đến khi thạch nguội.

+ Cấy trên môi trường thạch đổ đĩa (thực hiện đối với những chỉ tiêu vi sinh vật nhạy với nhiệt độ):

Rót khoảng 15÷18 ml môi trường thạch đã hóa lỏng trên nồi cách thủy (nhiệt độ khoảng 45⁰C) vào mỗi đĩa petri đã vô trùng.

Đĩa được xếp trên mặt phẳng ngang cho đến khi thạch nguội. Sau đó thường để các đĩa này ở nhiệt độ 30⁰C trong 2÷3 ngày kiểm tra độ vô trùng của chúng.

Đưa một cách vô trùng một thể tích 0,05÷0,1ml mẫu đã pha loãng đến nồng độ cần thiết lên bề mặt thạch chứa trong đĩa petri vô trùng.

Dùng que trang vô trùng dàn đều thể tích này lên khắp bề mặt môi trường. Mỗi mẫu cần làm ít nhất 2 độ pha loãng liên tiếp sao cho trên mỗi đĩa sẽ có từ 30÷300 khuẩn lạc và từ mỗi độ pha loãng cần cấy lại ít nhất là 2 đĩa.

+ Cấy trên ống:

Thay đĩa petri bằng ống nghiệm có đường kính lớn, các chai nhỏ có nắp.

Cấy mẫu vào, cho môi trường vào, lắc chai hoặc ống theo chiều ngang trong nước lạnh cho đến khi môi trường đông đặc tạo thành một lớp môi trường mỏng trên thành ống (chai).

Đếm các khuẩn lạc xuất hiện trong lớp màng mỏng xung quanh ống (chai), các khuẩn lạc nằm sâu bên trong có thể quan sát bằng kính lúp.

+ Cấy theo đường xoắn ốc:

Phương pháp dựa trên sự hỗ trợ của một thiết bị xoay có tác dụng phân phối một lượng mẫu xác định lên bề mặt đĩa đang xoay tròn. Điểm tiếp xúc của mẫu và đĩa môi trường bắt đầu từ trung tâm đĩa và di chuyển dần ra bên ngoài theo đường xoắn ốc. Sau khi mà khô bề mặt môi trường, đĩa được ủ trong điều kiện xác định, vi khuẩn sẽ phát triển theo đường xoắn ốc. Càng xa tâm của đĩa, mật độ vi sinh vật sẽ giảm dần và có xuất hiện các khuẩn lạc riêng biệt. Dựa vào tốc độ xoay của thiết bị, thể tích mẫu phân phối và kích thước đĩa, mật độ khuẩn lạc xuất hiện ở vòng xoắn cuối cùng sẽ tính được mật độ vi sinh vật trong mẫu. Kết quả thu được của phương pháp này tương đương với cấy trong hoặc trên môi trường thạch đổ đĩa.

- Lật ngược đĩa và đem nuôi ủ: ở nhiệt độ và thời gian tùy theo sản phẩm cần nghiên cứu và tùy theo loại vi sinh vật mà người ta muốn đánh giá sự phát triển của nó. Nhiệt độ thường 22⁰C, 30⁰C hay 37⁰C và thời gian nuôi ủ là 24, 48 hay 72 giờ.

d. Kết quả

Sau khi khuẩn lạc đã mọc, đếm số lượng các khuẩn lạc mọc trên đĩa. Để có kết quả chính xác, người ta chỉ tính những đĩa có 30÷300 khuẩn lạc (trên bề mặt và cả trong môi trường).

Số lượng vi sinh vật trung bình có trong 1ml (1g) mẫu được tính bằng (khuẩn lạc/g, ml) theo công thức:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2) \cdot f_1 \cdot v}$$

Trong đó:

$\sum C$: Tổng số khuẩn lạc đếm được trên tất cả các đĩa

n_1 : Số đĩa đếm ở nồng độ pha loãng thứ nhất (độ pha loãng thấp nhất)

n_2 : Số đĩa đếm ở nồng độ pha loãng thứ 2

f_1 : Hệ số pha loãng của đĩa ở nồng độ pha loãng thứ 1

v : Thể tích mẫu cấy vào mỗi đĩa petri

1.2.4.2. Nuôi cấy trên màng lọc

Kiểm tra nhanh nhất chất lượng và số lượng vi sinh vật (vi khuẩn, nấm men, nấm mốc) ở nồng độ thấp trong thể tích dịch lớn.

a. Nguyên tắc

Tăng số lượng vi sinh vật có trong mẫu kiểm nghiệm nhờ lọc trên màng lọc. Kích thước lỗ lọc phải nhỏ hơn kích thước của vi sinh vật cần phát hiện. Đặt màng đã lọc lên môi trường dinh dưỡng trong đĩa petri hoặc trên carton để các vi sinh vật phát triển ngay trên màng lọc. Quan sát màu, hình thái và đếm số khuẩn lạc.

b. Tiến hành

Thực hiện quá trình lọc như đã nêu ở trên.

Lượng dịch lọc có thể tùy theo từng loại mẫu kiểm nghiệm.

Lọc xong, để màng lọc lên môi trường thạch trong đĩa petri (cũng có thể để màng lọc lên môi trường lỏng, nhưng trường hợp này rất ít dùng) và nuôi cấy trong điều kiện thích hợp.

Sau một thời gian nhất định, đếm số khuẩn lạc phát triển ngay trên màng lọc.

c. Kết quả

Từ số khuẩn lạc mọc trên màng lọc, tính số lượng vi sinh vật trên đơn vị thể tích hoặc trọng lượng mẫu cần kiểm nghiệm.

Số lượng tế bào trong 1ml dịch lọc được tính theo công thức:

$$N = \frac{n}{V} \cdot k$$

Trong đó:

N: Số lượng tế bào trong 1ml dịch lọc

n: Số tế bào trung bình nhìn thấy trên trường quan sát

V: Thể tích dịch đã lọc (ml)

k: Tỷ số D^2/d^2

D: Đường kính màng lọc (m)

d: Đường kính trường quan sát (m)

1.2.5. Phương pháp MPN

Phương pháp đếm số có xác suất lớn nhất (Most Probable Number, MPN) còn được gọi là phương pháp pha loãng tới hạn, thường dùng để đánh giá số lượng vi sinh vật theo lượng vi sinh vật có xác suất lớn nhất hiện diện trong một đơn vị mẫu kiểm nghiệm.

a. Nguyên tắc

Dựa trên kết quả định tính của một loạt thí nghiệm được thực hiện ở nhiều độ pha loãng liên tiếp nhau theo bội số của 10 với số lần lặp lại cho mỗi độ pha loãng ít nhất là 3 ống. Các nồng độ pha loãng được tiến hành sao cho trong các lần lặp lại có một số lần cho hiện tượng dương tính, một số lần cho dấu hiệu âm tính. Vi sinh vật được nuôi cấy trong môi trường lỏng chọn lọc và có thể tạo đục, đổi màu, sinh khí trong môi trường nuôi cấy (đây là các ống dương tính). Xác định các ống dương tính, xử lý số liệu thu được theo bảng tra Mac Grady (Bảng xác định giá trị MPN theo số đặc trưng, phần Phụ lục) và từ đó tính ra số lượng tế bào sống có chứa trong 1g (1ml) mẫu ban đầu.

b. Tiến hành

- Chuẩn bị dịch pha loãng và các môi trường lỏng chọn lọc:

Lấy 9ml cho vào trong các ống nghiệm và khử trùng.

- Pha loãng mẫu cần kiểm nghiệm:

Nên làm ít nhất 3 độ pha loãng liên tiếp nhau để làm sao ở một nồng độ pha loãng này thì vi sinh vật phát triển trong tất cả các ống nghiệm lặp lại, đồng thời ở các độ pha loãng tiếp theo thì không có hoặc không phát triển trong tất cả các ống nghiệm lặp lại. Mỗi độ pha loãng khác nhau cần được cấy vào ít nhất 3 ống với thể tích chính xác là 1ml mẫu và cho vào 9ml môi trường nuôi cấy thích hợp.

- Nuôi cấy:

Sau khi cấy xong, đặt các ống nghiệm ở nhiệt độ thích hợp với các vi sinh vật cần kiểm tra. Thời gian nuôi cấy phụ thuộc vào tốc độ sinh trưởng của các vi sinh vật.

- Quan sát:

Kiểm tra xem vi sinh vật có phát triển hay không dựa vào các đặc tính lên men có thể quan sát được như làm đục, đổi màu, sinh khí trong môi trường nuôi cấy hoặc có thể bằng các phản ứng định tính.

d. Kết quả

- Xác định số đặc trưng và chỉ số MPN:

Trước hết cần xác định số đặc trưng biểu thị số ống dương tính gồm 3 con số. Số đầu (bên trái) chỉ số ống nghiệm dương tính ở độ pha loãng thấp nhất (có nghĩa là môi trường nuôi cấy có nồng độ mẫu cao nhất khi dùng để cấy thì thấy có sự phát triển của vi sinh vật). Hai số tiếp theo chỉ số ống nghiệm dương tính của 2 độ pha loãng tiếp theo. Từ số đặc trưng tìm được, tra bảng Mac Grady (Phụ lục 10) để tìm chỉ số MPN (dựa vào bảng tra 3 hoặc 5 lần lặp lại theo thực tế làm).

- Lượng tế bào sống có chứa trong 1g (1ml) mẫu ban đầu được tính theo công thức sau:

$$N = \frac{\text{Chỉ số MPN}}{\text{Độ pha loãng thấp nhất}}$$

2. QUY TRÌNH PHÂN TÍCH CHỈ TIÊU VI SINH THỰC PHẨM

2.1. Chuẩn bị dụng cụ khử trùng

2.1.1. Làm nút bông và bao gói

Dụng cụ trước khi khử trùng phải làm nút bông và bao gói thích hợp. Nút bông dùng để nhét vào miệng ống nghiệm phải vừa phải, không lỏng hay chặt quá, không dài hay ngắn quá, đầu phải tròn, gọn, không méo mó, xỏ tung.

Dụng cụ sau khi làm nút bông được bao gói phần có nút bông bằng giấy dầu hay giấy báo để khi hấp khử trùng nút bông không bị ướt, đảm bảo điều kiện vô trùng tốt hơn. Phần giấy bao ngoài phải chặt kín, bao bằng giấy dầu với dụng cụ hấp ướt, bao bằng giấy báo với dụng cụ sấy khô khi khử trùng. Với các dụng cụ như: pipet, đĩa petri, que gạt... phải dùng giấy bao kín toàn bộ. Các dụng cụ như đĩa petri, ống nghiệm, pipet... nếu đựng trong hộp kim loại thì không cần bao gói.

2.1.2. Khử trùng dụng cụ thí nghiệm

Các dụng cụ thí nghiệm được khử trùng trong tủ sấy ở nhiệt độ 160÷170°C trong 1÷2 giờ.

* *Chú ý:* Sau khi tắt tủ sấy, để nguội tới 60⁰C mới mở tủ lấy dụng cụ ra. Tránh mở tủ lấy dụng cụ khi nhiệt độ tủ còn cao sẽ làm dụng cụ thủy tinh dễ bị nứt vỡ. Các dụng cụ sau khi sấy mà giấy bao có màu hơi vàng là đạt yêu cầu.

2.1.3. Rửa dụng cụ

Các dụng cụ không nhiễm khuẩn hoặc chứa các vi sinh vật không gây bệnh thông thường được rửa bằng nước và xà phòng, để ráo. Với các dụng cụ cũ, bị nhiễm khuẩn hay chứa các vi sinh vật gây bệnh thì trước khi rửa phải hấp khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút, ngâm trong nước ấm, các dung dịch khử khuẩn.

2.2. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy

Môi trường có thể tự điều chế từ các hóa chất, thành phần riêng biệt dựa vào công thức môi trường hoặc từ các môi trường đông khô dạng thương phẩm có bán sẵn trên thị trường.

2.2.1. Chuẩn bị dụng cụ, nguyên vật liệu và hóa chất:

Dụng cụ chứa môi trường phải được rửa sạch, sấy khô, làm nút đậy và vô khuẩn trước bằng phương pháp sấy ở 160⁰C trong 2 giờ trong tủ sấy. Trong trường hợp này, các ống hút cần được nhét nút bông không thấm nước vào đầu hút. Đĩa petri thủy tinh, ống hút, các dụng cụ cần khử trùng khác được gói kín bằng giấy, giấy nhôm trước khi sấy.

Các nguyên vật liệu làm môi trường tùy loại mà phải được xử lý thích hợp. Các hóa chất sử dụng phải là loại tinh khiết hóa học. Để tiêu chuẩn hóa và đồng nhất, cũng như để tiện lợi trong thao tác pha chế, hiện nay hầu hết các phòng kiểm nghiệm vi sinh đều sử dụng môi trường khô (bột) thương phẩm.

2.2.2. Pha chế:

Các thành phần môi trường thường được ghi rõ trong tài liệu, người pha chế thường dựa vào đó để pha chế với thể tích phù hợp với nhu cầu sử dụng. Việc pha chế các môi trường này tương đối đơn giản, chỉ cần cân, hòa tan môi trường trong nước cất theo đúng liều lượng hướng dẫn.

2.2.3. Làm trong, điều chỉnh pH:

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật, nhất là môi trường lỏng, cần phải hoàn toàn trong để ta dễ dàng quan sát sự phát triển của chúng bằng mắt thường hoặc kính hiển vi. Trong trường hợp cần thiết ta có thể làm trong môi trường bằng những phương pháp sau:

- + Lọc qua giấy lọc, bông hay vải thưa nhiều lớp.
- + Keo tụ bằng lòng trắng trứng rồi lọc. Cứ 1 lít môi trường dùng một quả. Lấy lòng trắng trứng riêng, cho thêm một lượng nước bằng tương ứng, đánh tan cho đến sủi bọt và đổ vào môi trường, khuấy đều, đun sôi 10÷15 phút, để lắng rồi lọc.
- + Với môi trường đặc, trong quá trình lọc cần phải giữ nóng nhờ phễu lọc nóng. Nếu không có phễu lọc nóng thì sau khi đun chảy lòng, khuấy đều, đổ môi trường vào cốc lớn, đậy lại và để môi trường lắng và đặc lại. Sau đó đun nhẹ cho tách lớp và cất bỏ phần cặn bản ở phía dưới, còn phần trên đun chảy trở lại.

Để điều chỉnh pH, dùng HCl hoặc NaOH, NaHCO₃... Để xác định pH có thể dùng máy đo pH, giấy quỳ hoặc giấy đo pH. Sau khi pha chế và lọc xong phải đo pH. Sau đó tính lượng acid hoặc bazơ cần dùng để điều chỉnh, thêm vào môi trường, khuấy đều, đun nóng trong 5÷10 phút rồi kiểm tra lại pH.

2.2.4. Phân phối vào dụng cụ chứa:

Các dụng cụ chứa thích hợp tùy mục đích sử dụng trước khi được khử trùng.

Để khảo sát các phản ứng sinh hóa, lên men, tiền tăng sinh, tăng sinh, môi trường dạng lỏng thường được chứa trong ống nghiệm thủy tinh.

Để nuôi tiền tăng sinh, tăng sinh với dung tích lớn, môi trường thường được chứa trong các bình tam giác.

Để khảo sát khả năng tăng trưởng, hình thái khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc hay phân biệt, để định lượng vi sinh vật... người ta thường nuôi ủ trên môi trường rắn trong đĩa petri.

Để khảo sát các khả năng tăng trưởng, tạo bào tử, một số thử nghiệm sinh hóa, cấy chuyền, bảo quản giống, người ta thường sử dụng ống thạch nghiêng để tăng diện tích bề mặt môi trường.

Để nuôi cấy vi sinh vật kỵ khí thường sử dụng ống thạch sâu.

2.2.5. Khử trùng:

Chế độ khử trùng cho từng loại môi trường đều có ghi sẵn cùng với cách pha chế. Thường dùng nhất là phương pháp khử trùng bằng hơi nước bão hòa, có áp suất nhờ nồi hấp.

* Phương pháp làm môi trường đặc

- Làm thạch nghiêng: cho một lượng môi trường $1/4 \div 1/3$ vào ống nghiệm. Sau khi vô khuẩn xong, thạch còn lỏng ta để ống thạch ở vị trí nghiêng thích hợp trên một vật có độ cao vừa phải cho đến lúc thạch đặc lại hoàn toàn. Nếu trước khi để nghiêng ống thạch đã đặc thì phải đem làm chảy lỏng trở lại. Vị trí nghiêng phải tạo thế nào để đầu trên của mặt nghiêng không vượt quá $2/3$ chiều dài ống nghiệm, không để thạch chạm vào nút bông. Khi làm nghiêng tốt, mặt nghiêng thạch bằng phẳng, không bị đứt, chiều dài vừa phải, không ngắn quá, dài quá.

- Làm thạch đứng: cho vào ống nghiệm với lượng môi trường đặc chiếm $1/2 \div 2/3$ ống nghiệm. Thạch còn nóng, ta để đứng ống thạch và để đông lại.

- Làm thạch đĩa petri (hộp lỏng): Chỉ làm trước khi dùng một thời gian ngắn (vài giờ đến vài ngày). Đĩa petri phải sạch, khô bọc giấy và làm vô khuẩn trước. Trình tự làm như sau:

Đun thạch chảy lỏng, để nguội đến $50 \div 60^{\circ}\text{C}$ nhằm hạn chế sự ngưng tụ hơi nước trên nắp đĩa petri nhưng không để môi trường quá nguội làm thạch bị đông đặc cục bộ, bề mặt môi trường không phẳng.

Mở giấy bọc đĩa petri, đặt đĩa lên mặt bàn phẳng.

Tay phải cầm bình (hoặc ống) môi trường đã chảy lỏng, giữ hơi nghiêng, dùng tay trái xoay và rút nút bông ra, vô khuẩn miệng bình (hoặc miệng ống) trên đèn cồn.

Dùng tay trái hé mở nắp đĩa vừa phải và nhanh tay rót vào đĩa một lượng môi trường thích hợp. Có thể loại bỏ các bọt khí xuất hiện trên bề mặt môi trường trong đĩa bằng cách hơi nhẹ đĩa trên ngọn lửa.

Nhanh chóng đậy nắp đĩa lại, xoay tròn đĩa từ từ trên bàn để thạch dàn thành một lớp đều trên đáy đĩa. Không xoay mạnh làm cho thạch bắn tung lên.

Hé mở nắp đĩa và để yên cho đến lúc thạch đặc lại hoàn toàn.

Đậy nắp lại, lật ngược đĩa cho đáy lên trên.

Cần chú ý là cho thạch vào đĩa petri không làm vô khuẩn lại nữa, nên khi đổ phải làm nhanh, cẩn thận, bảo đảm không bị nhiễm khuẩn từ bên ngoài. Tốt nhất nên tiến hành trong phòng (tủ) vô khuẩn.

Đĩa được giữ ở nhiệt độ thường trong tủ cấy hoặc giữ trong tủ lạnh cho đến khi dùng. Trong trường hợp giữ trong tủ lạnh, khe giữa hai nắp đĩa môi trường cần được dán kín bằng băng keo

hoặc bằng màng parafin để tránh mất nước làm khô môi trường. Bề mặt thạch bị ướt có thể được làm khô để tránh hiện tượng vi sinh vật mọc loang bằng cách ủ trong tủ ẩm ở $30\div40^{\circ}\text{C}$ vài giờ hoặc qua đêm.

Thạch đĩa đổ tốt, mặt thạch phải đều, bằng phẳng, lớp thạch không dày hoặc mỏng quá (thường khoảng 2mm).

** Lưu giữ môi trường*

Tùy loại môi trường và tùy yêu cầu mà ta có thể chuẩn bị một lượng để dùng trong một thời gian nhất định.

- Môi trường bột khô: Môi trường bột khô rất dễ hút ẩm nên khi sử dụng xong phải đậy ngay và vặn nút thật chặt. cất giữ môi trường ở nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

- Môi trường đã pha chế: Pha chế môi trường với lượng vừa đủ, không nên để lâu. Số môi trường chưa dùng đến phải bảo quản ở chỗ mát, nhiệt độ $0\div5^{\circ}\text{C}$, không để môi trường bị khô, bị hư hỏng dưới tác dụng của ánh sáng và nhiệt độ.

Nếu lưu giữ môi trường trong tủ lạnh thì trước khi sử dụng phải lấy ra khỏi tủ lạnh, để ở nhiệt độ phòng khoảng vài giờ hoặc để trong tủ ẩm khoảng nửa giờ. Thời gian lưu trữ môi trường đã pha chế sẵn không nên quá 7 ngày.

Dù môi trường mới chuẩn bị hay đã bảo quản lâu, trước khi đem dùng đều phải kiểm tra lại sự vô khuẩn của nó. Muốn vậy, ta để môi trường vào tủ ẩm có nhiệt độ từ $37\div38^{\circ}\text{C}$ trong $2\div3$ ngày, lấy ra quan sát và loại bỏ những ống (bình) môi trường có vi sinh vật phát triển (bị đục hoặc có khuẩn lạc).

2.3. Chuẩn bị mẫu

2.3.1. Giải đông mẫu

Giải đông trong điều kiện vô trùng, thực hiện ở nhiệt độ $2\div5^{\circ}\text{C}$ trong khoảng 18 giờ. Khi cần thiết có thể giải đông nhanh ở 45°C trong 15 phút, trong trường hợp này cần liên tục lắc bình chứa mẫu để tăng tốc độ giải đông và làm đồng nhất nhiệt độ bên trong mẫu.

2.3.2. Đồng nhất mẫu

Do sự phân bố không đồng đều của vi sinh vật trong mẫu nên mẫu cần được làm đồng nhất trước khi kiểm nghiệm. Việc đồng nhất các mẫu lỏng được thực hiện bằng cách lắc kỹ trước khi kiểm nghiệm. Các mẫu rắn được lắc hay đảo trộn bằng các dụng cụ chuyên dùng. Ví dụ: thiết bị đập mẫu Stomacher trong điều kiện vô trùng.

Sau khi mẫu được đồng nhất, tùy theo yêu cầu của chỉ tiêu kiểm nghiệm, thực hiện lấy một lượng mẫu xác định của mẫu để tiến hành kiểm nghiệm.

2.3.3. Cân (hút) mẫu

Cân (hút) chính xác một lượng mẫu xác định để tiến hành kiểm nghiệm tùy theo yêu cầu của chỉ tiêu kiểm nghiệm với sai số cho phép là $\pm 0,1\text{g (ml)}$.

2.3.4. Pha loãng

Tùy theo sản phẩm mà có thể chọn một trong số dung dịch pha loãng sau:

- | | |
|--------------------------|--|
| - Nước cất | - Nước muối sinh lý |
| - Dung dịch Ringer | - Dung dịch Tryptone hay Tryptone muối |
| - Dung dịch Tryptone đệm | |

Bảng 8.1. Thành phần các dung dịch pha loãng

Các chất	Hàm lượng (g)			
	Nước muối sinh lý	Dung dịch Ringer	Tryptone muối	Tryptone đậm
Tryptone hoặc Peptone			1	20
NaCl	8,5	8,5	8,5	5
KCl		0,25		
CaCl ₂		0,3		
Na ₂ HPO ₄				9
KH ₂ PO ₄				1
NaHCO ₃		0,2		
Nước cất hoặc nước đã loại ion	Pha đủ cho 1 lít			

Mẫu cần được pha loãng ở mức thập phân nối tiếp nhau bội số của 10. Chuẩn bị một loạt các ống nghiệm, hút chính xác vào mỗi ống 9ml dịch pha loãng đã vô trùng.

Đối với mẫu lỏng: Lắc kỹ mẫu, dùng pipet vô trùng hút 1ml mẫu cho vào ống nghiệm đầu tiên, lắc đều, ta có hệ số pha loãng mẫu là 1:10 (10^{-1}). Dùng một pipet vô trùng mới hút 1ml mẫu ở ống đầu tiên cho vào ống thứ hai, lắc đều, ta có hệ số pha loãng 1:100 (10^{-2}). Các độ pha loãng sau 10^{-3} , 10^{-4} ... cứ tiến hành tiếp tục như vậy cho đến khi đạt được độ pha loãng theo yêu cầu.

Đối với mẫu rắn: Đồng nhất mẫu, cân 10g (25g) mẫu cho vào các bao dập mẫu hoặc máy xay vô trùng, thêm 90ml (225ml) dịch pha loãng và tiến hành đồng nhất mẫu, ta có dung dịch mẫu đồng nhất có hệ số pha loãng là 1:10 (10^{-1}). Các độ pha loãng sau 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ... tiến hành tương tự như đối với mẫu lỏng.

* *Chú ý:* Các dung dịch pha loãng nói trên chỉ nên chuẩn bị ngay trước khi tiến hành kiểm nghiệm. Thời gian thao tác nên không chế trong vòng 30 phút kể từ khi bắt đầu đến khi đổ môi trường dinh dưỡng.

2.4. Nuôi cấy mẫu

2.4.1. Dụng cụ cấy

- Que cấy thẳng: que cấy kim loại có đầu nhọn, thường dùng để cấy chủng ở dạng khuẩn lạc từ môi trường rắn lên môi trường rắn hoặc lỏng.

- Que cấy móc: que cấy có đầu vuông góc, dùng để cấy vi sinh vật có tạo khuẩn ty.

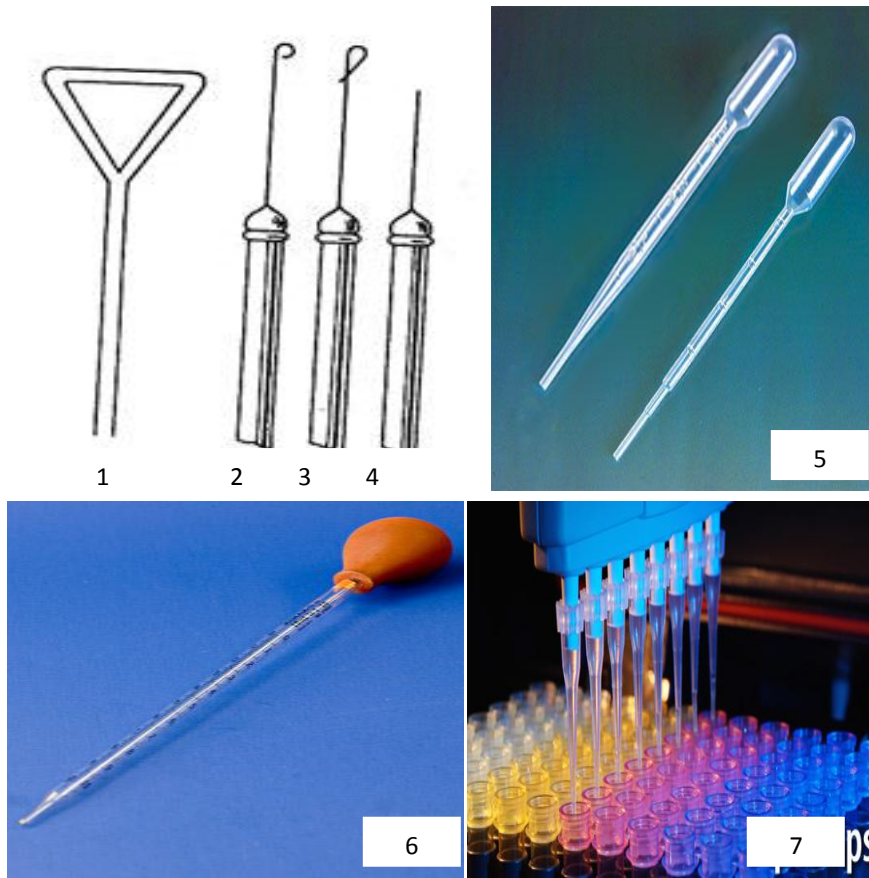
- Que cấy vòng: que cấy kim loại đầu có vòng tròn, dùng cấy chủng từ môi trường rắn hoặc lỏng lên môi trường rắn, lỏng.

- Que cấy trang: bằng kim loại hay thủy tinh, đầu hình tam giác, dùng để dàn trải vi sinh vật trên bề mặt thạch rắn.

- Ống hút thủy tinh (pipet): dùng để chuyển một lượng vi sinh vật nhất định lên bề mặt môi trường rắn hoặc vào môi trường lỏng. Hiện nay, pipet cấy chuyển vào với những đầu tip vô

trùng có thể tháo rời để thay đổi (pipet đầu rời, transferpipet) đã được sử dụng thay thế cho pipet dạng hút thông thường.

- Đầu tăm bông vô trùng: cây giống từ môi trường lỏng lên bề mặt môi trường rắn.



1. Que cấy trang thủy tinh
2. Que cấy móc
3. Que cấy vòng
4. Que cấy thẳng

Hình 8.3. Các loại dụng cụ cấy mẫu lên môi trường

2.4.2. Các thao tác vô trùng

Thao tác cấy được thực hiện trong một không gian vô trùng tạo bởi ngọn lửa đèn cồn, đèn Bunsen hoặc các tủ cấy vô trùng bằng tia cực tím.

Để tránh việc gây nhiễm thông qua tiếp xúc, nhân viên thao tác cần mang găng tay hoặc tiến hành sát trùng tay bằng cồn 70⁰ hoặc các dung dịch diệt khuẩn, tương tự như vậy tiến hành sát trùng mặt bàn thao tác trước khi bắt đầu thao tác vô trùng. Sau khi hoàn tất việc cấy chủng, tiến hành sát trùng tay, mặt bàn tương tự như trên trước khi rời phòng kiểm nghiệm.

2.4.3. Phương pháp cấy trên môi trường thạch hộp bằng pipet

- Dùng đĩa petri đã vô khuẩn, chưa có thạch
- Đun chảy ống thạch, để nguội đến 50÷55⁰C
- Dùng pipet vô khuẩn hút một lượng mẫu nhất định, hé mở đĩa, nghiêng qua lại hoặc xoay nhẹ đĩa để chúng dàn đều trên đáy đĩa.

- Hé mở nắp đĩa, nhanh tay đổ thạch vào, đặt nắp và xoay nhẹ vài vòng trên bàn cho thạch và mẫu gieo cấy trộn đều đồng thời dàn thành một lớp trên đáy đĩa.

- Để thạch đặc lại, lật ngược đĩa, cho vào tủ ẩm.

2.4.4. Phương pháp cấy trên môi trường bằng pipet đầu rời

Pipet đầu rời cho phép thao tác chính xác với những dung tích nhỏ, cho phép cấy chuyển dễ dàng dịch khuẩn lên bề mặt môi trường rắn trong đĩa petri nhằm tạo khuẩn lạc rời hoặc vào ống nghiệm hay bình chứa môi trường lỏng để nuôi tăng sinh. Bằng một pipet đầu rời, người ta thực hiện với số lần không hạn chế các thao tác vô trùng này do có thể hấp khử trùng đồng loạt với số lượng lớn các đầu tip. Trước khi sử dụng, kiểm nghiệm viên cần biết các yêu cầu cơ bản khi thao tác với pipet đầu rời như sau:

- Mỗi pipet đầu rời có dung tích khác nhau: 0,1µl; 1÷20µl; 20÷200µl; 0,2÷1ml; 1÷5ml; 1÷10ml. Dải dung tích thao tác cho phép này thường được ghi rõ trên pipet đầu rời. Trong dải dung tích cho phép, kiểm nghiệm viên có thể điều chỉnh để có dung tích chính xác cần thao tác. Cần chọn pipet đầu rời với giới hạn dung tích thích hợp trong phạm vi thao tác.

- Cần bơm pipet đầu rời thường có hai nắp: nắp 1 tương đương với dung tích được chọn sử dụng khi hút dung dịch, nắp 2 vượt quá nắp 1 được sử dụng khi bơm dung dịch ra khỏi đầu tip của pipet đầu rời.

- Khi sử dụng pipet đầu rời để cấy chuyển dịch giống cần tiến hành thao tác trong không gian vô trùng của ngọn lửa trong tủ cấy.

- Tay phải cầm pipet đầu rời, tay trái mở hộp chứa đầu tip vô trùng. Cắm đầu pipet vào đầu tip.

- Dùng tay trái giữ ống nghiệm mẫu đã pha loãng. Dùng ngón út và áp út của tay phải đang giữ pipet để kẹp giữ và mở nút bông, hơ nóng khử trùng miệng ống nghiệm hoặc bình chứa.

- Đưa đầu tip vô trùng vào bên trong ống mẫu pha loãng, hút lấy dung tích cần thiết.

- Rút đầu tip ra khỏi miệng bình chứa, khử trùng miệng bình chứa và đẩy bằng nút bông đang được giữ ở ngón út và áp út của tay phải.

- Đầu tip có chứa vi sinh vật được giữ ở vùng không khí vô trùng gần ngọn đèn.

- Dùng tay trái lấy ống nghiệm hoặc bình chứa môi trường mới, dung ngón út và áp út kẹp và mở nút bông, khử trùng miệng bình chứa.

- Đưa đầu tip vào bên trong môi trường và bơm dịch mẫu vào môi trường.

- Rút đầu tip ra khỏi miệng bình chứa, khử trùng miệng bình, đẩy nút bông.

- Thay đầu tip vô trùng mới khi thực hiện đợt cấy tiếp theo.

* *Chú ý:* đầu pipet đầu rời và đầu tip được chế tạo bằng polymer nên tuyệt đối không được đốt khử trùng đầu pipet và đầu tip bằng ngọn lửa.

2.4.5. Nuôi ủ vi sinh vật

Để đảm bảo vi sinh vật phát triển tốt, môi trường sau khi gieo cấy xong phải được giữ trong những điều kiện hiếu khí và yếm khí thích hợp cho sự phát triển và hoạt động của vi sinh vật.

- Nhiệt độ: Để duy trì nhiệt độ thích hợp, ta sử dụng các tủ hoặc phòng ẩm có bộ phận điều chỉnh nhiệt độ tự động luôn luôn duy trì nhiệt độ ở một mức nhất định nào đó.

- Độ ẩm: Để đảm bảo độ ẩm cho vi sinh vật phát triển ta có thể thực hiện bằng các cách sau:

- + Khi chuẩn bị môi trường phải đảm bảo đủ lượng nước.

- + Phun nước vô khuẩn vào phòng nuôi hoặc để nước bốc hơi trong tủ ẩm.

2.5. Quan sát, đọc, tính, đánh giá kết quả

Quan sát, đọc và đánh giá kết quả tùy thuộc vào từng phương pháp phân tích

B. Câu hỏi và bài tập thực hành

1. Việc lấy mẫu kiểm nghiệm chỉ tiêu vi sinh phải đáp ứng những yêu cầu nào? Quy trình lấy mẫu phải thực hiện như thế nào để đáp ứng những yêu cầu đó?
2. Làm thế nào để lựa chọn được nồng độ pha loãng mẫu phù hợp? Nêu cách thức thực hiện pha loãng mẫu kiểm nghiệm đến nồng độ pha loãng 10^{-5} .
3. Việc gieo cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy được thực hiện theo những phương pháp nào? Phương pháp cấy nào được lựa chọn sử dụng kiểm nghiệm định lượng vi sinh vật? Vì sao?
4. Tại sao không thể định lượng được số lượng tế bào vi sinh vật bằng các phương pháp đếm trực tiếp?
5. So sánh hai phương pháp định lượng vi sinh vật: phương pháp đổ đĩa đếm khuẩn lạc và phương pháp đếm số có xác suất lớn nhất MPN?
6. Nêu cách thức kiểm tra lại mức độ vô trùng của các phương pháp khử trùng sau:
 - Phương pháp khử trùng khô
 - Phương pháp khử trùng ẩm
 - Phương pháp khử trùng bằng nhiệt gián đoạn
 - Phương pháp lọc khử trùng
7. Các thử nghiệm sinh hóa trong kiểm nghiệm vi sinh vật được thực hiện dựa trên nguyên tắc nào? Hãy nêu các hiện tượng dương tính yêu cầu của các thử nghiệm sinh hóa?
8. Quy trình chung kiểm nghiệm một chỉ tiêu vi sinh vật theo phương pháp đổ đĩa đếm khuẩn lạc được thực hiện như thế nào?
9. Quy trình chung kiểm nghiệm một chỉ tiêu vi sinh vật theo phương pháp đếm số có xác suất lớn nhất MPN được thực hiện như thế nào?
10. Tại sao phải làm mẫu trắng (đối chứng) song song với quá trình kiểm nghiệm mẫu? Cách thức thực hiện và yêu cầu cần có của một mẫu mẫu trắng?
11. Mục đích sử dụng và cách thực hiện tổng quát của mẫu đối chứng dương (+) và mẫu đối chứng âm (-) trong quá trình kiểm nghiệm một số chỉ tiêu vi sinh vật?
12. Kiểm nghiệm các nguyên nhân dẫn đến trường hợp mẫu trắng có hiện tượng dương tính sau khi nuôi ủ? Cách xử lý kết quả kiểm nghiệm trong trường hợp này như thế nào?

C. Ghi nhớ

- Nguyên tắc, quy trình phân tích, tính kết quả của một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm;
- Trình tự các bước tiến hành phân tích một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm.
- Xác định một số chỉ tiêu vi sinh của thực phẩm

HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔ ĐUN

I. Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của mô đun:

- *Vị trí:* Mô đun Phân tích chất lượng thực phẩm là mô đun chuyên môn trong chương trình đào tạo trình độ Cao đẳng của nghề Công nghệ thực phẩm, được bố trí giảng dạy sau các môn học cơ sở của nghề.

- *Tính chất:* Đây là mô đun tích hợp giữa lý thuyết và thực hành. Nội dung mô đun giảng dạy về kiến thức và kỹ năng về lấy mẫu, các phương pháp phân tích, đánh giá chất lượng của nguyên liệu, bán thành phẩm và sản phẩm thực phẩm. Do đó, mô đun cần được tổ chức giảng dạy tại phòng học lý thuyết và phòng thí nghiệm thực hành có đầy đủ điều kiện, phương tiện giảng dạy và dụng cụ, thiết bị, máy móc, hóa chất, nguyên vật liệu cần thiết cho việc dạy và học. Tùy theo điều kiện cơ sở vật chất và tính chất từng bài trong mô đun có thể tổ chức giảng dạy tích hợp hoặc giảng dạy lý thuyết trước thực hành sau tại trường và tại cơ sở thực tế.

- *Ý nghĩa và vai trò của mô đun:* Mô đun giúp cho người học lấy mẫu, kiểm tra, phân tích, đánh giá nguyên liệu, bán sản phẩm trên dây chuyền sản xuất, sản phẩm thực phẩm thông qua các chỉ tiêu cảm quan, lý hóa, vi sinh. Từ đó, có sự điều chỉnh về công nghệ hay kỹ thuật cho phù hợp.

II. Mục tiêu của môn học/mô đun:

- Về kiến thức:

- + Trình bày được khái niệm về các loại mẫu, phương pháp lấy mẫu;
- + Trình bày được nguyên tắc của các phương pháp phân tích thể tích, phân tích công cụ
- + Mô tả được yêu cầu của việc lấy mẫu phân tích chất lượng thực phẩm;
- + Trình bày được phương pháp, quy trình đánh giá cảm quan thực phẩm;
- + Trình bày được nguyên tắc, quy trình phân tích, đánh giá kết quả của các chỉ tiêu lý hóa, vi sinh của thực phẩm;
- + Nêu được trình tự các bước tiến hành phân tích các chỉ tiêu cảm quan, lý hóa, vi sinh của thực phẩm.

- Về kỹ năng:

- + Thực hiện lấy mẫu chính xác và quản lý mẫu theo đúng quy định;
- + Pha được các hóa chất cần thiết theo đúng yêu cầu dùng trong phân tích và đảm bảo an toàn;
- + Vận hành được các máy, thiết bị thông dụng dùng trong phân tích kiểm nghiệm;
- + Thực hiện đúng quy trình đánh giá cảm quan chất lượng thực phẩm;
- + Lựa chọn được phương pháp phân tích lý hóa, vi sinh phù hợp với chỉ tiêu chất lượng của thực phẩm;

- + Thực hiện được các bước thao tác xác định nồng độ dung dịch bằng phương pháp phân tích thể tích, phân tích công cụ;
- + Thực hiện thành thạo thao tác xác định được các chỉ tiêu chất lượng thực phẩm theo đúng trình tự, chính xác và đảm bảo an toàn;
- + Tính toán, lập được báo cáo kết quả phân tích.
- Về năng lực tự chủ và trách nhiệm:
- Có ý thức kỷ luật, tác phong công nghiệp;
- + Tuân thủ quy trình, quy phạm, thái độ nghiêm túc, trung thực trong quá trình học tập và thực hành, thực tập;
- + Có khả năng làm việc độc lập, làm việc theo nhóm tại các cơ sở sản xuất trong điều kiện làm việc ổn định;
- + Chịu trách nhiệm cá nhân và trách nhiệm đối với nhóm trong học tập, rèn luyện kỹ năng tại trường và cơ sở sản xuất thực tế;
- + Có khả năng tiếp nhận thông tin, giải quyết vấn đề trong quá trình học tập tại trường và cơ sở thực tế dưới sự hỗ trợ của giảng viên và người hướng dẫn;
- + Tự đánh giá chất lượng công việc của bản thân sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm;
- + Ý thức cao trong việc đảm bảo an toàn lao động và an toàn vệ sinh thực phẩm và tự học, rèn luyện nâng cao kiến thức, kỹ năng nghề nghiệp.

III. Tài liệu tham khảo

- [1]. Nguyễn Hoàng Dũng (2005), *Giáo trình Thực hành đánh giá cảm quan*, Trường Đại học Bách khoa TP Hồ Chí Minh
- [2]. PGS. TS Lê Thanh Mai (chủ biên) (2009), *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [3]. Trần Thị Thanh Mẫn (chủ biên), Hồ Thị Tuyết Mai, Hoàng Minh Thực Quyên, Trần Thị Minh Hương (2010), *Giáo trình phân tích thực phẩm* (lưu hành nội bộ), trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm.
- [4]. Trần Xuân Hiền, (2007), *Đánh giá chất lượng thực phẩm*, Khoa Nông Nghiệp & TNTN.
- [5]. Hà Duyên Tư, (2006), *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa Học và Kỹ Thuật Hà Nội.
- [6]. Hà Duyên Tư (1996), *Quản lý và kiểm tra chất lượng thực phẩm*, trường Đại học Bách khoa Hà Nội.
- [7]. Trần Linh Thuộc (2009), *Các phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.

[8]. GS.TS. Phạm Xuân Vượng (2007), *Giáo trình kiểm tra chất lượng thực phẩm* (dùng trong các trường THCN), Nhà xuất bản Hà Nội.

[9]. Các văn bản pháp luật liên quan đến phân tích, kiểm nghiệm chất lượng thực phẩm, các quy chuẩn kỹ thuật và tiêu chuẩn hiện hành của Việt Nam và quốc tế.