

高等学校轻工专业试用教材

工业发酵分析

天津轻工业学院 大连轻工业学院 编 著
无锡轻工业学院 华南工学院

轻工业出版社

高等学校轻工专业试用教材

工 业 发 酵 分 析

天津轻工业学院 大连轻工业学院
无锡轻工业学院 华南工学院 编著

轻工业出版社

内 容 简 介

本书对工业发酵专业中有关的原料、半成品与成品等的分析测定,按其方法分类,编写了60多个分析测定项目,并详细地介绍了在工业发酵分析中应用较广的色层分析与气相色谱分析。

本书供轻工业高等院校工业发酵专业教学用,也可供有关科研单位与工厂的技术人员和化验人员参考。

高等学校轻工专业试用教材

工 业 发 酵 分 析

天津轻工业学院 大连轻工业学院 编著
无锡轻工业学院 华南工学院

轻工业出版社出版

(北京阜成路3号)

72261 印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

850×1168毫米 $\frac{1}{32}$ 印张: 13 $\frac{1}{4}$ 字数: 337千字

1980年9月第一版第一次印刷

1986年5月第一版第四次印刷

印数: 24,601—40,600 定价: 2.85元

统一书号: 15042·1566

前 言

本教材根据轻工业部于1977年10月召开的高等院校工业发酵专业教材编审会议所制订的编写大纲，由天津轻工业学院、大连轻工业学院、无锡轻工业学院、华南工学院联合编写，天津轻工业学院任主编。本书经主审人秦含章工程师审阅并经轻工业部组织的工业发酵教材编审委员会审定出版。

全书共分六章。第一章、第二章由天津轻工业学院王福荣同志编写，第三章、第六章由华南工学院钟珮珩、凌希利、张水华同志编写，第四章由大连轻工业学院柳冰雄、张乃谦同志编写，第五章由无锡轻工业学院赵光螯、金岭南同志编写，其中部分实验项目由承担编写的四院校互相提供资料，分别编写在各章之中。全书由王福荣同志负责最后统稿。

本教材供工业发酵专业“工业发酵分析”课程教学用，也可供有关科研人员、工厂技术人员和高等院校有关专业师生参考。

本教材教学时数为80~90学时，其中授课时数为25~30学时，实验时数为55~60学时。

在编写过程中，许多有关科研单位和工厂对编写工作提出了宝贵意见，我们表示衷心的感谢。

由于我们水平所限，教材编写中难免有不妥之处，望读者批评指正。

编 者

1979年5月

绪 论

工业发酵分析为工业发酵专业的专业基础课。它是在学生学习了物理学、无机化学、有机化学、物理化学、分析化学等课程，并具有一定的分析基础理论和基本操作技能后开设的。

工业发酵范围很广，包括酒类、酒精、氨基酸、有机酸、酵母、酶制剂、酱油等。根据目前轻工业部所制订的工业发酵专业范围及本课程教学大纲要求，本书主要以酒类、酒精和味精生产中的分析测定为主，同时考虑到专业教科书的特点，编写中选择了部分分析实例并按其所属的分析方法类型进行分类编写。对属于化学分析、比色分析与分光光度分析范围的常规分析测定仅介绍典型的分析实例。对近期来迅速发展并广泛应用的仪器分析方法，结合各院校、有关科研单位和工厂的仪器设备条件，仅介绍色谱分析与气相色谱分析，并附有部分有关实例。本书还介绍了农药残留量、黄曲霉毒素和部分重金属等有害物质的分析检测。各院校在使用本教材时可根据具体情况，对教材内容有所侧重与选择。

通过本课程学习，使学生能独立运用物理的和化学的分析方法，对工业发酵中有关的原料、半成品、成品和副产物进行分析测定，同时初步培养科学研究能力。

随着科学技术的迅速发展，新型的、现代化的分析器械逐渐应用到工业发酵中，如高压液相色谱法、原子吸收分光光度法以及色谱-质谱、色谱-红外光谱等仪器联用，特别是电子计算机的使用，使分析方法更灵敏、更快速。但由于这些分析方法尚未普及，故本书未予以介绍，读者如有需要可查阅专门著作。

2/12/17

目 录

第一章 化学分析	(1)
一、样品的采集与处理	(1)
二、水分的测定	(3)
(一) 淀粉质原料的水分测定	(3)
(二) 废糖蜜的水分测定	(4)
(三) 啤酒花的水分测定	(5)
三、糖类的测定	(6)
(一) 原料中粗淀粉与纯淀粉的测定	(7)
(二) 酒醅中淀粉的测定	(15)
(三) 谷氨酸发酵液中还原糖的测定	(16)
(四) 固体曲糖化酶活力的测定	(18)
(五) 液体曲糖化酶活力的测定	(20)
(六) 麦芽糖化力的测定	(21)
四、含氮量的测定	(23)
(一) 原料中粗蛋白质的测定	(24)
(二) 啤酒中蛋白质的区分	(28)
(三) 酱油中氨态氮的测定	(31)
五、酸的测定	(33)
(一) 白酒中总酸、挥发酸、非挥发酸的测定	(34)
(二) 啤酒总酸度的测定	(35)
(三) 电位滴定法测定啤酒的总酸度	(38)
六、白酒中总酯的测定	(38)
七、白酒中总醛的测定	(40)

八、原料中粗脂肪的测定	(41)
九、原料中粗纤维素的测定	(43)
十、啤酒花中单宁的测定	(44)
十一、酒石酸的测定	(46)
十二、原料中磷的测定	(48)
十三、酿造用水的硬度测定	(50)
十四、废糖蜜中总胶体的测定	(53)
十五、废糖蜜灰分的测定	(55)
第二章 比色分析与分光光度分析	(57)
第一节 比色分析与可见光分光光度分析	(57)
一、啤酒色度的测定	(58)
二、白酒中甲醇的测定	(59)
三、白酒中杂醇油的测定	(62)
四、酒糟中微量乙醇的测定	(64)
五、白酒中铅的测定	(66)
六、味精中锌的测定	(70)
七、啤酒中铜的测定	(71)
八、味精中铁的测定	(73)
九、啤酒中铁的测定	(75)
十、白酒中氰化物的测定	(77)
十一、柠檬酸中砷的测定	(81)
十二、游离 α -氨基氮的测定	(84)
十三、单核苷酸类的测定	(86)
十四、谷氨酸发酵液中总酮酸的测定	(88)
十五、蛋白酶活力的测定	(90)
十六、液化型淀粉酶活力的测定	(92)
十七、啤酒中花色苷原的测定	(94)
第二节 紫外光分光光度分析	(97)
一、单核苷酸的紫外光分光光度法测定	(100)

二、啤酒中异 α -酸的测定	(101)
三、啤酒中双乙酰的测定	(103)
第三章 气体分析	(106)
第一节 谷氨酸发酵液中谷氨酸含量的测定	(106)
一、华勃氏呼吸仪的构造	(107)
二、测定过程及原理	(107)
三、反应瓶常数的导出	(109)
四、反应瓶常数的测定方法	(111)
五、发酵液中谷氨酸含量的测定	(115)
第二节 氨基氮的测定	(118)
一、原理	(119)
二、试剂	(119)
三、仪器的装置	(119)
四、操作步骤	(121)
五、结果计算示例	(123)
第三节 瓶装啤酒中二氧化碳与瓶顶 空间空气含量的测定	(124)
一、原理	(124)
二、仪器装置	(125)
三、测定步骤	(126)
四、计算	(126)
第四章 物理分析	(128)
第一节 比重法	(128)
一、物质的比重	(128)
二、测定液体比重的仪器及其原理	(129)
三、实验	(134)
(一) 啤酒(或麦芽汁)比重的测定	(134)
(二) 啤酒外观浓度与实际浓度的测定	(135)
(三) 啤酒酒精分的测定	(137)

(四) 原麦芽汁浓度和发酵度的计算	(137)
(五) 废糖蜜的糖度测定	(139)
第二节 折光法	(141)
一、折光率	(141)
二、全反射	(142)
三、几种折光计介绍	(142)
四、利用浸入式折光计测定啤酒酒精分和浸出物 ...	(154)
第三节 旋光法	(156)
一、偏振光	(156)
二、偏振光的产生及物质的旋光性	(157)
三、旋光计结构与原理	(158)
四、旋光度 α 与比旋光度 $[\alpha]$	(160)
五、国产 WZZ 自动指示旋光计简介	(162)
六、大麦淀粉的测定	(163)
七、味精成品纯度的测定	(164)
第五章 色层分析法	(167)
第一节 柱层析	(168)
一、吸附柱层析	(168)
二、分配柱层析	(173)
三、离子交换柱层析	(178)
四、柱层析的仪器装置与操作	(184)
第二节 凝胶层析	(186)
一、凝胶层析的原理与特点	(186)
二、凝胶的类型与性质	(188)
三、凝胶层析的操作技术	(195)
四、凝胶层析的应用	(196)
第三节 纸上层析	(197)
一、原理	(197)
二、操作方法与操作条件的选择	(198)

三、定性分析	(212)
四、定量分析	(220)
五、纸上层析中常见的一些不正常现象 及其防止方法	(221)
第四节 薄层层析	(224)
一、分类	(225)
二、操作方法与操作条件的选择	(225)
三、影响薄层层析的因素	(238)
第五节 纸上电泳	(241)
一、电泳原理与分类	(241)
二、影响电泳速度的因素	(242)
三、操作方法与操作条件的选择	(244)
四、纸上电泳中的一些异常现象及其防止方法	(251)
第六节 实验	(253)
一、无离子水的制备	(253)
二、己酸发酵液的纸上层析	(257)
三、啤酒中氨基酸的纸上层析	(259)
四、酿造酒及其原料中六六六、二二三 (DDT) 残留量的测定	(262)
五、核苷酸的分离与鉴定	(268)
六、酿造酒中黄曲霉毒素的测定	(271)
第六章 气相色谱分析	(278)
第一节 气相色谱的一般流程	(278)
第二节 气相色谱的分离系统	(279)
一、色谱柱	(280)
二、色谱流出曲线和有关术语	(291)
三、色谱柱的分离效能	(294)
四、最佳分离条件的选择	(296)
五、填充色谱柱的制备	(308)

第三节 气相色谱的检测器	(309)
一、检测器的响应值和敏感度	(309)
二、热导池检测器	(314)
三、氢火焰离子化检测器	(317)
四、其他检测器简介	(322)
第四节 气相色谱的辅助系统	(324)
一、气流系统	(324)
二、温度控制系统	(325)
三、进样系统	(325)
四、记录系统	(325)
第五节 气相色谱的定性定量	(326)
一、定性分析	(326)
二、定量分析	(329)
第六节 气相色谱分析的应用	(335)
一、饮料酒的气相色谱分析	(336)
二、气相色谱分析应用实例	(342)
第七节 实验——白酒低沸点芳香成分	
直接进样气相色谱分析	(350)
附录	(353)
一、试剂配制	(353)
二、附表	(379)
三、参考文献	(417)

第一章 化 学 分 析

一、样品的采集与处理

供分析用的试样应保证具有代表性，才能使分析结果符合大量物料的真实成分。

工业发酵中样品，就其物态而言，不外乎固体、液体、气体三类。液体和气体样品的采集，由于它们本身一般比较均匀，取样方法较为简单，只需混合均匀后即可取样。

固体试样的采集，应从各个位置对称取样。经过破碎、过筛、混匀、缩分四个步骤，获得所需分析试样。贮存于密闭、干燥、清洁的玻璃瓶中。

应该注意，在样品的采集中，有时还需考虑到杂菌的污染、微生物的继续活动以及温度、时间、水分等的影响。对特殊的取样方法，将在有关的实验中介绍。

分析试样的处理是一个非常复杂的问题，这是由于工业发酵中原料、半成品、成品的多种多样所致。一般说来，常采用溶解、干法灰化和湿法消化三种。

1. 溶解

水是常用的溶剂，能溶解许多碳水化合物、部分氨基酸、有机酸和无机盐类。

酸碱能溶解某些不溶性碳水化合物、部分蛋白质等。

有机溶剂如乙醚、乙醇、丙酮、氯仿、四氯化碳、烷烃等，常用作提取脂肪、单宁、色素、部分蛋白质和许多有机化合物。根据“相似溶解于相似”的原则，选用合适的有机溶剂。有机相中少量水分，如对测定有影响，可用无水氯化钙、无水硫酸钠脱

水。

2. 干法灰化

干法灰化即熔融法。将试样与熔剂一起，高温灼烧分解试样。常用于测定金属与无机盐类。

干法灰化所用熔剂有碳酸钠、碳酸钾、硫酸氢钾、焦硫酸钾等。若熔融时还不能使灰变白，可加助灰剂如硝酸、硫酸、硝酸镁等。

干法灰化时温度较高，有些物质易挥发损失。如铅的测定中，灰化温度需在 500°C 以下进行。

干法灰化不仅引入较多的钾、钠盐，同时也可能从坩埚中带入杂质，故一般采用湿法消化。

3. 湿法消化

湿法消化即将试样与浓酸共热分解试样。常用的浓酸有硫酸、硝酸、盐酸、高氯酸等，过氧化氢也是常用的分解试剂。

湿法消化分解试样速度较快，而且可得到较纯的溶液。

试样中糖类、蛋白质、色素、菌体等的存在往往使溶液浑浊或色泽很深，影响以后的分析测定。如滴定终点的观察、干扰比色、妨碍沉淀的形成与过滤、洗涤等，必要时需进行澄清与脱色。

常用的澄清剂为碱性乙酸铅与中性乙酸铅。

碱性乙酸铅能除去很多浑浊的胶体与色素，常用于废糖蜜的分析中。但沉淀较为疏松，能部分吸附还原糖，同时有些蛋白质能溶于过量的碱性乙酸铅中，故使用时应避免过量。

中性乙酸铅澄清能力较碱性乙酸铅为弱，但沉淀对还原糖的吸附极少，且不生成可溶性的铅糖混合物，是测定还原糖时最常用的澄清剂。

由于二价铅有还原性，故在测定还原糖时加澄清剂后必须进行除铅处理（如旋光法测定时可不必进行除铅）。通常采用磷酸氢二钠和草酸钠（或草酸钾）混合液作除铅剂，使生成难溶的磷酸

铅和草酸铅沉淀除去，其中磷酸氢二钠又具有调节pH值的作用。当采用斐林试剂-碘量法测定还原糖时，则除铅剂只能用磷酸氢二钠，否则草酸根的还原作用干扰测定。试液中大量钙盐存在会降低还原糖的还原能力，除铅剂在除铅的同时还可以除去钙。除铅剂也可使用饱和硫酸钠溶液。

二、水 分 的 测 定

水分在工业发酵中是一个极为重要的分析项目。原料中水分，对原料的品质与保存关系甚大。水分过高，原料在贮藏时容易发霉变质，影响原料的利用价值。麸曲白酒生产中，入池酒醅水分高低，直接影响白酒的质量。发酵产品，如味精中水分，是一个重要的质量指标。

水分测定方法一般采用烘干法，即在100~105℃烘箱中直接干燥或在红外灯下干燥。对在此温度下易分解或含较多的挥发性物质的试样，则可采用减压低温干燥法。

（一）淀粉质原料的水分测定

常用的淀粉质原料有高粱、大麦、大米、玉米、薯干、木薯等。试样经粉碎过40目筛后进行水分测定。

1. 测定步骤

准确称取约2克试样，置入经100~105℃干燥恒重后的称量瓶中，在100~105℃烘箱中干燥3~4小时，取出，置入干燥器中冷却至室温，称重。再于相同温度下干燥1小时左右，同上操作，直至恒重。

2. 计算

$$\text{水分}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

式中 W_0 ——称量瓶重（克）

W_1 ——干燥前试样与称量瓶重（克）

W_2 ——干燥后试样与称量瓶重（克）

3. 讨论

① 原料的水分测定一般需采用 100~105°C 烘箱中直接干燥，其结果较为准确。对生产过程中的水分测定，如麸曲、酒醅等，可采用更高温度下干燥（如 120~140°C）或红外灯下干燥，以缩短分析时间，利于指导生产。

② 当原料水分大于 16% 时，在原料粉碎过程中水分会有显著损失，因此需在低温下（60°C 左右）预先干燥至水分 12~14%，此时测得的水分称为前水分。然后将原料粉碎，准确测定其水分，此时测得的水分称为后水分，原料总水分：

总水分(%) = $[1 - (1 - \text{后水分}\%) (1 - \text{前水分}\%)] \times 100\%$
或

$$\text{总水分}(\%) = \text{前水分} + (\text{后水分} \times \frac{100 - \text{前水分}}{100})$$

必要时尚需考虑原料粉碎时空气湿度校正。校正方法为：准确称取 5 克已粉碎试样，置入已恒重的称量瓶中，在空气中暴露与试样处理时相同的时间，盖好称重。

$$\text{空气湿度增减量}(\%) = \frac{\text{试样重} - \text{放置后试样重}}{\text{试样重}} \times 100\%$$

$$\text{校正原试样重} = \text{试样重} \times \frac{\text{水分}}{\text{水分} + \text{空气湿度增减量}}$$

（二）废糖蜜的水分测定

废糖蜜含糖分高而且粘稠，测定水分时如将样品直接加热干燥，会由于表面形成干燥硬壳妨碍水分挥发，烘干时间需要很长，且容易因局部过热而烘焦，因此一般多采用红外灯干燥法。红外线穿透力强，能射入物质内部并转变为热能，使水分充分汽化逸出，这样可大大缩短干燥时间。但此法如条件控制不好则精密度较低。

为准确测定废糖蜜水分，可将样品与 6~8 倍的精制海砂、石英砂或石棉混合，使增加水分蒸发点及防止过热。先在较低温

度下加热除去大部分水分，然后升温烘至恒重，此法需要时间长，但可测出准确的真固形物含量，精密度较高。

1. 红外线干燥法

准确称取试样约10克，置入已烘干称重的直径10厘米的表面玻璃上，用事先与表面玻璃一同烘干称重的小玻棒将试样铺成薄层。打开500瓦红外线灯，待5分钟后将盛有试样的表面玻璃连同小玻棒一起放在灯下，距离为15~20厘米。干燥12分钟后，用小玻棒把边层试样翻至中央，再干燥12分钟，取出，置于干燥器中冷却16~20分钟，即可称重。再置入红外线灯下干燥5分钟，冷却称重，直至恒重。

2. 烘箱干燥法

准确称取试样5~10克，置入已烘干至恒重的称量瓶中，再准确称取重量为试样6~8倍的已烘干至恒重的精制海砂（石英砂或石棉），用一根已烘干称重的小玻棒将海砂与试样充分拌和，置入70℃烘箱中，烘约1小时，然后升温至105℃，烘3~4小时，取出，于干燥器中冷却，称重。再放入105℃烘箱中，烘约1小时，冷却称重，直至恒重。

3. 计算

设称量瓶（或表面玻璃）连同小玻棒，若加入海砂，则连同海砂总重量为 W_0 克，加入试样后重量为 W_1 克，干燥至恒重后的重量为 W_2 克。

$$\text{水分}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

（三）啤酒花的水分测定

啤酒花中含有一部分易挥发的芳香油，用通常的烘干法测定水分，不可避免地将部分挥发成分连同水分失去，造成分析上的误差。此外，啤酒花中的 α -酸等在烘干过程中，部分地发生氧化等化学反应，这也是造成误差的因素之一。但生产中常用的较简便的快速法仍然是烘干法，只是在烘干温度以及烘干时间上有

所不同。

1. 常规烘干法

准确称取啤酒花试样 2 ~ 3 克, 置入已烘干称重的称量瓶中, 于 80 ~ 85°C 烘箱中, 烘 4 小时, 取出, 于干燥器中冷却, 称重, 计算出水分百分率。两次平行试验相差不应大于 0.2%。

啤酒花中正常水分为 10 ~ 13%。

2. 快速烘干法

准确称取啤酒花试样 2 ~ 3 克, 置入已烘干称重的铝制小盒或扁形称量瓶中, 于 106°C 烘箱中烘 1 小时, 取出, 于干燥器中冷却, 称重。或者于 95 ~ 98°C 干燥 1.5 小时, 取出, 于干燥器中冷却, 称重, 计算出水分百分率。两次平行试验相差不应大于 0.5%, 否则需补作一次或两次, 最后取这些数据平均值。本方法为“欧洲啤酒酿造协会”推荐法 (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 简称“欧啤协”, E.B.C.)。

三、糖类的测定

糖类是发酵微生物所需的主要碳源。工业发酵中的糖类主要是指淀粉、糊精、双糖、单糖等。

糖类的测定在工业发酵中具有特别重要意义。原料中淀粉含量是原料的重要质量指标; 发酵过程中糖量变化可以衡量发酵正常与否; 味精生产中发酵終了也需通过发酵醪中残糖的测定确定的。另外, 淀粉酶、糖化酶的活力测定也是通过测定糖量来计算的。

糖的定量测定有物理法和化学法两类。物理方法有测定折光率、旋光度、比重等。化学方法主要是利用游离羰基 (醛基或酮基) 的还原性, 应用氧化还原法进行测定。所有的单糖都具有游离羰基, 称为还原糖, 但双糖中蔗糖无游离羰基, 称为非还原糖, 需经转化为单糖后进行定量。

糖的测定中最常用的氧化剂为斐林试剂 (Fehling), 即用二