



Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm
Bộ môn Công nghệ Hóa học

HÓA PHÂN TÍCH DỤNG CỤ

CHƯƠNG 8.

CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH NHANH

CHƯƠNG 8. CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH NHANH

1. Khái niệm - nguyên lý
2. Một số phân tích bằng que thử
3. Kỹ thuật Elisa

1. KHÁI NIỆM – NGUYÊN LÝ

- Phương pháp phân tích nhanh có nguồn gốc từ lĩnh vực y khoa, nhằm cung cấp các công cụ chẩn đoán di động cho cả nhân viên y tế và bệnh nhân.
- Phương pháp phân tích nhanh (rapid test) được dùng để chỉ một chuỗi các phương pháp có cùng chung đặc điểm là dễ thao tác, nhanh, rẻ và có thể áp dụng tức thì.
- Các quy trình phân tích thường ngắn và đơn giản, bằng cách bỏ đi nhiều bước trong phương pháp phân tích truyền thống



1. KHÁI NIỆM – NGUYÊN LÝ

ƯU ĐIỂM

- Tiết kiệm kinh phí và thời gian
- Dùng kết quả để đánh giá sàng lọc, hoặc để can thiệp
- Giải quyết vấn đề vận chuyển hoặc bảo quản mẫu
- Mở rộng quyền truy cập để kiểm soát
- Cho phép thực hiện kiểm tra mọi lúc, làm tăng tính hiệu quả của chương trình đo
- Không cần hoặc cần ít công cụ hỗ trợ

1. KHÁI NIỆM - NGUYÊN LÝ

- Phương pháp mang tính chất định tính
- Dựa vào các phản ứng tạo màu của chất cần phân tích với thuốc thử
- Kết quả thể hiện là màu sắc, có thể nhận biết bằng mắt thường



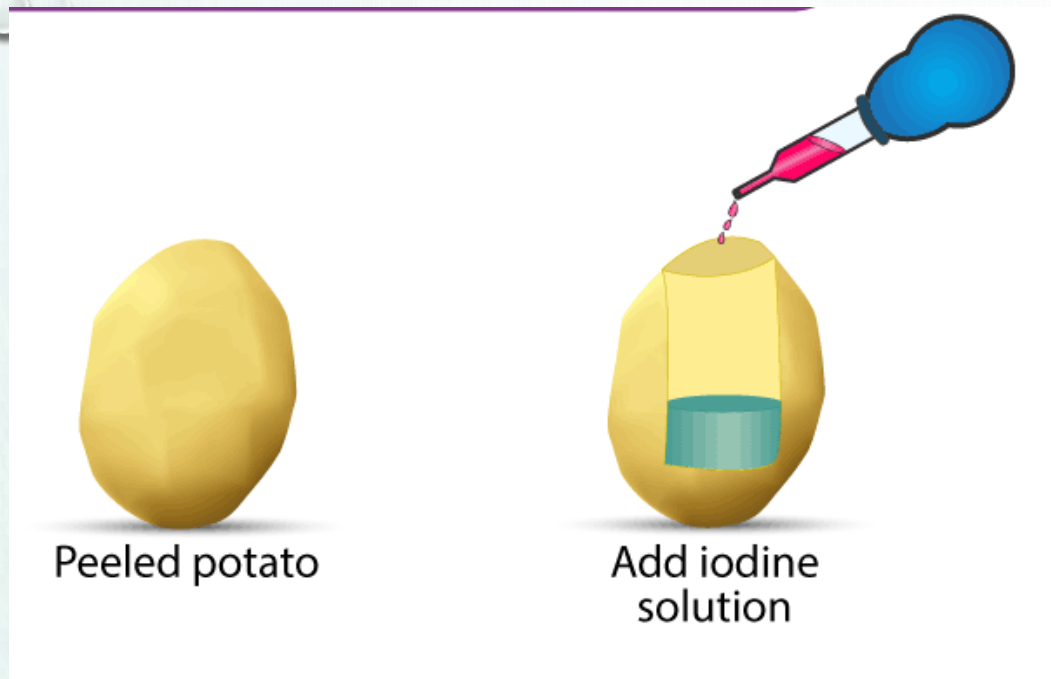
4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

4.2 Các kit phân tích nhanh của bộ công an

- Kit kiểm tra nhanh dư lượng thuốc trừ sâu
- Kiểm tra nhanh formaldehyde
- Kiểm tra nhanh hàn the
- Kiểm tra nhanh các acid vô cơ trong dầu ăn
- Kiểm tra nhanh acid salicylic
- Kiểm tra nhanh ôi khét dầu mỡ
- Kiểm tra nhanh nitrite – nitrate
- Kiểm tra nhanh các loại ma túy đá
- Kiểm tra nhanh kháng sinh tetracycline, chloramphenicol, hormone tăng trọng Salbutamon
- ...

4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

Kit kiểm tra độ sạch của bát đĩa



Tinh bột + Iod \rightarrow màu xanh



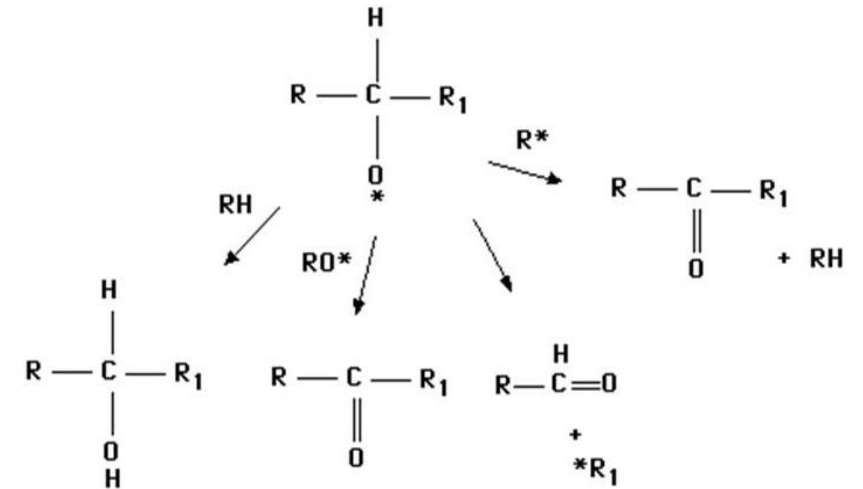
- Thuốc thử L có tính năng giúp phát hiện dấu vết dầu, mỡ.
- Thuốc thử G giúp phát hiện dấu vết tinh bột.

4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

Kit kiểm tra độ sạch của bát đĩa

- Cetoacid và aldehyde + các thuốc nhuộm kiềm như: fuchsin kiềm, lục malachit, xanh metylen, tím gentian...
→ hợp chất có màu
- Hòa tan 0,2g chất màu Sudan III và 0,05 g xanh metylen vào 70 ml cồn etylic 90⁰ đã đun nóng ở nhiệt độ 60⁰ C. Sau đó cho thêm 10 ml dung dịch amoniac 20 – 25%.
- Rót 5 ml thuốc thử vào bát hay đĩa cần kiểm nghiệm. Láng đều khắp bề mặt. Sau 10 giây đọc kết quả. Bát đĩa bẩn sẽ bắt màu đỏ thẫm.

Lipid Oxidation



This reaction scheme is capable of generating aldehydes, ketones, alcohols and hydrocarbons. Many of the volatile compounds formed during lipid oxidation originate through similar dismutations.



4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

Kit kiểm tra hàn the (borat)

Hàn the: hạn chế lên men, chống nấm mốc, diệt khuẩn,... giúp cho thực phẩm tươi lâu, màu sắc bắt mắt, tăng độ dẻo dai của một thực phẩm.

Tác hại: dễ gây tiêu chảy, đau bụng, nôn mửa. Lâu dần sẽ tích tụ trong gan dẫn đến hại gan, suy nhược cơ thể. kích thích hệ thần kinh có thể gây trầm cảm, riêng thận phải lọc nhiều chất độc trong hàn the lâu ngày sẽ suy yếu và rối loạn chức năng thận. Lượng hàn the lên tới 5g thì gây ngộ độc cấp và mãn tính, thậm chí có thể dẫn đến tử vong.

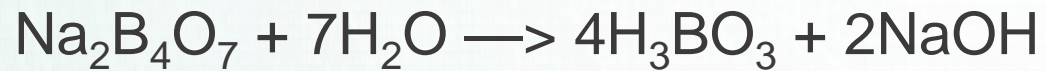
Que thử hàn the:

- *Dương tính:* Nếu giấy thử phía dưới que thử chuyển màu (từ màu vàng tươi sang màu đỏ nâu) khác với vạch màu in phía trên giấy thử.
- *Âm tính:* Nếu giấy thử phía dưới que thử không chuyển màu.

4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

Kit kiểm tra hàn the (borax: $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$)

Phản ứng thủy phân:



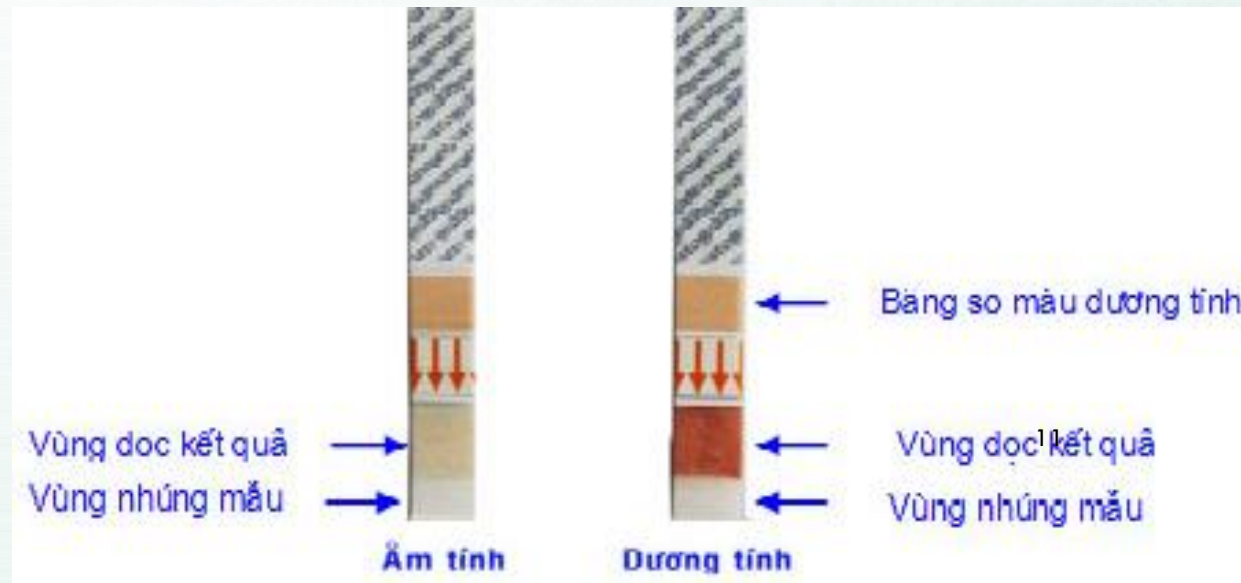
4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH BẰNG QUE THỬ

Kit kiểm tra sulfite

Sulfite: chất bảo quản trong thực phẩm (sản xuất rượu nho, nước quả ép, bảo quản hoa quả tươi, khô, thực phẩm thủy sản: cá, sò, hến, thịt băm)

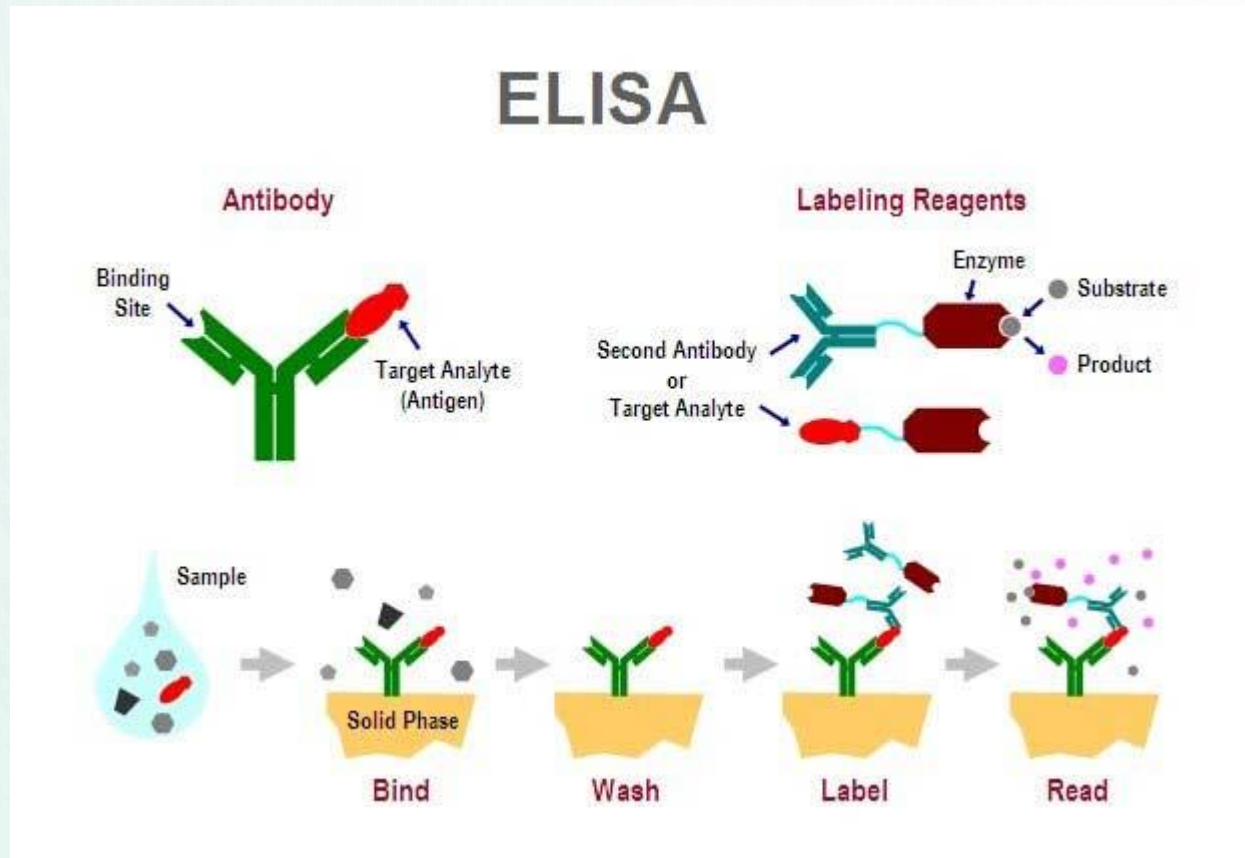
Tác hại: Nồng độ Sulfite cao có thể gây các phản ứng kích ứng, dị ứng gây cảm giác khó chịu như: khó thở, chóng mặt, đau bụng, ói mửa, tiêu chảy,...trường hợp bị dị ứng nặng hoặc đối với người bị hen có thể gây sốc, hôn mê thậm chí dẫn đến tử vong.

Cách xác định: cho mẫu vào nước sạch, sau 2 phút nhúng que test vào và đọc kết quả từ 30s đến 1 phút



3. KỸ THUẬT ELISA

Elisa (Enzyme-link immunosorbent assay): kỹ thuật hóa sinh, sử dụng chủ yếu trong miễn dịch học để phát hiện sự hiện diện của một kháng thể hoặc kháng nguyên trong mẫu phân tích.



Nguyên lý: dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên (antigen AG) - kháng thể (antibody AB).

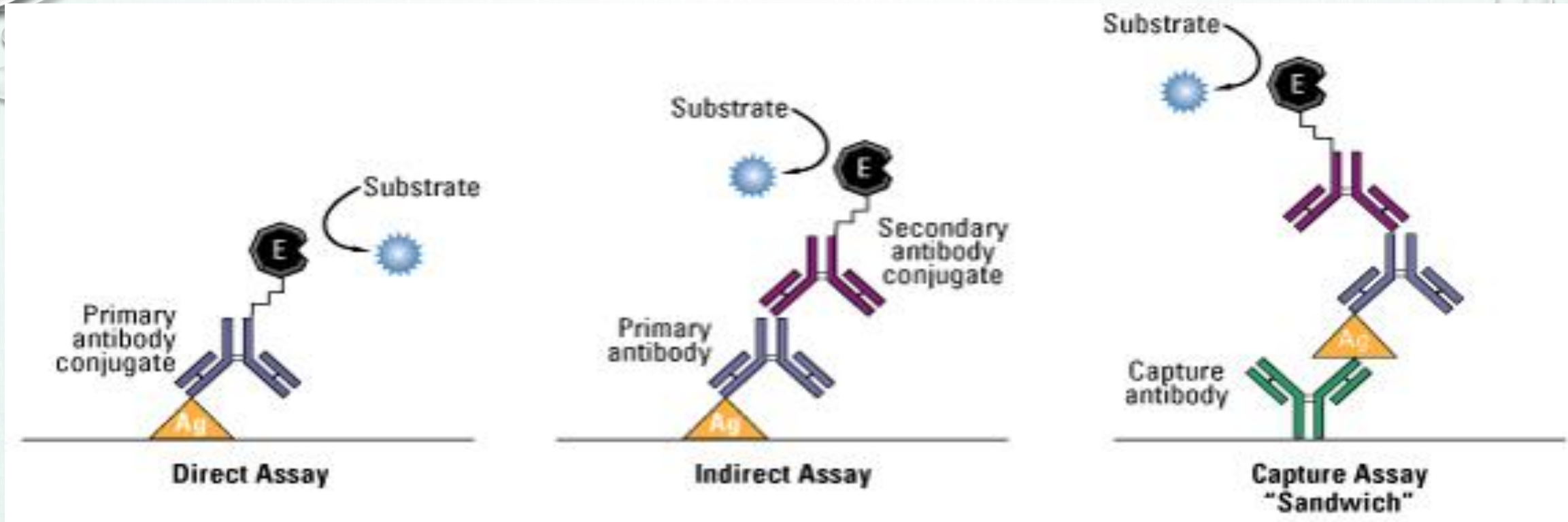
Kháng nguyên được gắn trên 1 bề mặt

Kháng thể biết trước được rửa qua bề mặt đó.

Kháng thể này được gắn với enzyme, thêm vào cơ chất của enzyme, enzyme sẽ biến đổi cơ chất này thành tín hiệu có thể xác định được.

3. KỸ THUẬT ELISA

Phân loại



Elisa trực tiếp

Sử dụng một kháng thể có gắn cơ chất enzyme sẽ liên kết với kháng nguyên trên bề mặt đĩa phản ứng.

Elisa gián tiếp

Kháng thể thứ cấp sẽ được bổ sung và bắt cặp đặc hiệu với kháng thể sơ cấp đã bắt cặp với kháng nguyên.

Elisa sandwich

định lượng kháng nguyên giữa hai lớp kháng thể (kháng thể bắt-capture và phát hiện-detection)¹³

3. KỸ THUẬT ELISA

Phân loại

Elisa trực tiếp	Elisa gián tiếp	Elisa sandwich
<p>Nhanh, hạn chế tối đa các thao tác khi thực hiện phản ứng</p> <p>Loại bỏ được phản ứng chéo của kháng thể thứ cấp</p>	<p>Linh hoạt trong việc lựa chọn và sử dụng các kháng thể thứ cấp</p> <p>Hoạt động miễn dịch của kháng thể sơ cấp có thể phát huy tối đa vì không bị ảnh hưởng bởi cơ chất đánh dấu.</p> <p>Độ nhạy cao.</p> <p>Linh hoạt trong việc sử dụng cơ chất</p>	<p>Mẫu không cần tinh sạch trước khi phân tích.</p> <p>Độ đặc hiệu cao</p> <p>Thích hợp cho các mẫu phức tạp.</p> <p>Linh hoạt và độ nhạy cao</p>
<p>Khó khăn và tốn kém khi lựa chọn kháng thể cho phản ứng</p> <p>Không linh hoạt trong việc lựa chọn các cơ chất gắn</p> <p>Tín hiệu khuếch đại thu được thấp</p>	<p>Có thể xảy ra phản ứng chéo với các kháng thể thứ cấp à độ đặc hiệu của phản ứng bị ảnh hưởng.</p> <p>Thời gian thực hiện phản ứng lâu hơn.</p>	

3. KỸ THUẬT ELISA

Các bước - thao tác



Đĩa 96 giếng
(8 x 12 giếng), thể
tích 350 μL)



Micropipet đa kênh
Thể tích 1-20 μL ; 10-
100 μL , 20-200 μL)



Máy rửa giếng



Thiết bị đọc kết quả

3. KỸ THUẬT ELISA

Các bước - thao tác

1. Cho kháng nguyên vào mỗi đĩa Elisa

↓
Đem ủ, rửa các đĩa chứa kháng nguyên

↓
Thêm kháng thể

↓
Ủ, rửa

↓
Bổ sung kháng thể có gắn enzyme

↓
Ủ, rửa

↓
Thêm cơ chất

↓
Ủ, đọc kết quả

2. Cho kháng nguyên vào mỗi đĩa Elisa

↓
Đem ủ các đĩa chứa kháng nguyên

↓
Rửa

↓
Thêm kháng thể có gắn enzyme

↓
Rửa

↓
Ủ ở 37°C

↓
Thêm cơ chất

↓
Ủ, đọc kết quả

3. KỸ THUẬT ELISA

Các bước - thao tác

3. Cho kháng thể thứ I vào giếng Elisa

↓
Ủ, rửa

↓
Thêm kháng nguyên

↓
Ủ, rửa

↓
Thêm kháng thể thứ II

↓
Ủ, rửa

↓
Bổ sung kháng thể thứ II có gắn enzyme

↓
Ủ, rửa

↓
Thêm cơ chất tạo màu

↓
Ủ, đọc kết quả

3. KỸ THUẬT ELISA

Ứng dụng:

Trong thực phẩm: phát hiện và định lượng vi sinh trong thực phẩm

- Phát hiện độc tố trong tảo
- Phát hiện E.coli, Salmonella, Staphylococcus, sán lá gan ...trong thực phẩm.
- Phát hiện chloramphenicol trong tôm, cá và sản phẩm thủy sản
- Kiểm tra dư lượng kháng sinh trong thực phẩm, tàn dư thuốc diệt cỏ, thuốc trừ sâu.

Trong y học:

- Xét nghiệm HIV nhằm phát hiện kháng nguyên p24
- Chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan siêu vi B và C, bệnh ung thư
- Xác định tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng sốt rét

Trong nông nghiệp

- Chẩn đoán các bệnh trên cây trồng: tristeza (tác nhân gây bệnh héo rũ) trên cam quýt⁸
- Phát hiện kháng thể chống Mycoplasma hyopneumonia ở heo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

<https://vstytw2.com.vn/ky-thuat-elisa-73-25.html>

<https://www.sinhhocphantu.org/2017/12/elisa-la-gi-gioi-thieu-ky-thuat-elisa.html>

<https://tincay.com/cach-kiem-tra-do-sach-bat-dia/>

<http://biomedia.vn/review/cac-luu-y-ve-thao-tac-khi-tien-hanh-phan-ung-elisa.html>

<https://pacificlab.vn/vi/news/blog-kien-thuc/ky-thuat-elisa-va-nhung-dieu-can-luu-y-24.html>

<https://medlatec.vn/tin-tuc/ky-thuat-elisa-la-gi-va-nhung-dieu-can-luu-y-khi-thuc-hien-ky-thuat-nay-s159-n16546>

<https://www.case.vn/vi-VN/34/96/114/details.case>