

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 1/6
--	----------------------------	--

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG C-4
TRONG MẬT ONG BẰNG PHƯƠNG PHÁP TỈ LỆ
ĐỒNG VỊ BÈN (EA-IRMS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Nguyễn Ngọc Quân	Trần Minh Thứ	Trần Thái Vũ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1			

- A. TỔNG QUAN**
I. Phạm vi áp dụng.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 2/6
--	----------------------------	--

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng đường thực vật C-4 trong mật ong bằng phương pháp tỉ lệ đồng vị bền của carbon (EA-IRMS).

<i>STT</i>	<i>Chỉ tiêu</i>	<i>LOD, %</i>	<i>LOQ, %</i>
1	C₄-Sugar	2	7

II. Tài liệu tham khảo.

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo:

✓ AOAC 998.12

III. Nguyên tắc.

Giá trị tỉ lệ đồng vị bền carbon 13 của protein tách chiết từ mật ong được so sánh với giá trị tỉ lệ đồng vị bền carbon của mật ong. Từ sự khác biệt giữa các giá trị này suy ra hàm lượng đường C-4 trong mật ong.

Cả mật ong và protein phải được phân tích trên cùng một thiết bị (EA-IRMS).

VI. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.

Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi cần thiết.

Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

B. PHÂN TÍCH

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 3/6
--	----------------------------	--

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

1. Thiết bị cơ bản.

- Cân phân tích
- Bếp đun cách thủy
- Máy ly tâm

2. Thiết bị phân tích

- EA-IRMS (Thermo Fisher)

II. Hoá chất và chất chuẩn.

1. Hoá chất.

- Dung dịch Na_2WO_4 10%: cân 40g chất rắn hòa tan trong 400ml nước DI
- Dung dịch H_2SO_4 0.335M: hút 7.2ml H_2SO_4 đậm đặc vào 400ml nước DI.
- Khí helium 5.0 (carrier gas).
- Khí O_2 5.0 (flash combustion gas).
- Khí CO_2 (working standard reference gas).

2. Chất chuẩn.

- Chất chuẩn:
Protein (Casein) standard OAS (Elemental Microanalysis).
- Chuẩn làm việc: beet sugar, corn starch.

III. Kiểm soát QA/QC.

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

- Mẫu Blank method

Thực hiện mẫu Blank theo [mục VI.2.](#)

VI. xử lý mẫu.

1. Chuẩn bị mẫu.

Trích dẫn “ hướng dẫn công việc đồng nhất mẫu trong phòng thí nghiệm – HD.KT.022”

Điều kiện bảo quản mẫu: nhiệt độ phòng

2. Phương pháp tiến hành.

2.1 Honey: Cân 3mg mật ong không pha loãng, trong capsule và đặt trên bộ phận lấy mẫu tự động của buồng đốt.

2.2 Protein

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 4/6
--	----------------------------	--

- Nếu có một lượng đáng kể chất rắn mật ong thì tiến hành lọc thông qua lưới 100_150 (nguyên liệu nylon là tốt nhất), bất kì vật liệu không hòa tan nào nặng hơn nước sẽ gây ô nhiễm protein kết tủa.
- Cân 10-12g mật ong vào ống ly tâm 50ml, thêm 4ml H₂O, trộn đều. Thêm 2ml dung dịch Na₂WO₄ 10% và 2ml H₂SO₄ 0.335M, lắc đều. Tiến hành đun cách thủy ở 80°C trong 10 phút. Sau khi đun có kết tủa nổi lên, cho thêm nước vào đầy ống rồi tiến hành ly tâm 5 phút ở 1500 vòng/phút, gạn bỏ phần nước và giữ lại phần rắn. Lặp lại bước rửa thêm 3 lần.
- Lấy một lượng protein thích hợp cho vào capsule và đặt vào buồng đốt tương tự như trong phần kiểm tra mật ong. Đốt cháy protein bằng phương pháp tương tự được sử dụng cho mật ong.

Lưu ý: Nếu muốn bảo quản phần protein này để phân tích tỷ lệ đồng vị sau đó thì chuyển một lượng nhỏ vào lọ nhỏ và đặt trong nước sôi 2 phút hoặc làm khô protein ít nhất 3 giờ trong lò ở 75°C.

- Đặt chuẩn làm việc (beet sugar or corn starch) sau 15 lần tiêm mẫu.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 5/6
--	----------------------------	--

IV. Phân tích

Các thông số phân tích trên máy EA-IRMS

Ms		
HV	(KV)	3.02
Vac	(mBar)	1.4-1.8e-006
Temperature		
Left Furnace	(°C)	1020
Right Furnace	(°C)	650
Oven	(°C)	47
Flow/Timing		
Carrier	(ml/min)	140
Oxygen	(ml/min)	175
Reference	(ml/min)	120
Cycle(run time)	(sec)	400
Sampling delay	(sec)	12
Oxygen Injection End	(sec)	5

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

Kết quả được tính theo công thức sau:

$$C - 4\text{ sugar}, \% = \frac{\delta^{13}C_P - \delta^{13}C_H}{\delta^{13}C_P - (-9.7)} \times 100\%$$

-9.7 là giá trị trung bình $\delta^{13}C$ của đường syro bắp.

$\delta^{13}C_P$ là giá trị đo được của Protein, ‰

$\delta^{13}C_H$ là giá trị đo được của Honey, ‰

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.231 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 26/3/2018 Trang: 6/6
--	----------------------------	---

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- Mẫu Blank ko phát hiện.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong biểu mẫu BM.15.06