

TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 5268 : 1990

**MẬT ONG TỰ NHIÊN
PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ĐIATAZA**

HÀ NỘI

Lời nói đầu

Cơ quan biên soạn: Công ty Ông Trung ương

Bộ Nông nghiệp và Công nghiệp Thực phẩm

Cơ quan đề nghị ban hành: Bộ Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm

Cơ quan trình duyệt: Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường – Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành: Uỷ ban Khoa học Nhà nước

Quyết định ban hành số 733/QĐ ngày 31 tháng 12 năm 1990

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM**TCVN 5268 : 1990****Mật ong tự nhiên. Phương pháp xác định chỉ số diastaza***Honey determination of diastase index*

1. Khái niệm:

- Chỉ số diastaza đặc trưng cho hoạt tính của các enzym amilaza có trong mật ong
- Chỉ số diastaza (tính bằng đơn vị Gata) được biểu thị bằng số mililit (ml) dung dịch tinh bột tan 1% bị phân huỷ bởi các enzym amilaza có trong 1g mật ong trong 1 giờ ở điều kiện nhiệt độ 40°C.
- 1 ml dung dịch tinh bột 1% tương ứng với 1 đơn vị hoạt tính Gota.

2. Lấy mẫu theo TCVN 5261-90

3. Phương pháp xác định

3.1. Nguyên tắc

- Phương pháp dựa trên việc dùng quang phổ định lượng cơ chất bị phân huỷ ở phản ứng lên men, sau đó tính ra chỉ số diastaza.

3.2. Dụng cụ cắt, hóa chất:

- Máy quang phổ tự ngoại đo được ở hướng sóng 600 nm;
- Nồi cách thủy $40 \pm 0,2^\circ\text{C}$;
- Cân phân tích;
- Bình định mức 25, 100, 500, 1000 ml;
- Bình tam giác 50, 250 ml;
- Ống nghiệm;

TCVN 5268 : 1990

- Cốc có mỗ loại 50 ml;
- Pipet các loại 0.5, 1, 2, 5, 10 ml;
- Iôd (I_2) loại tinh khiết phân tích;
- Kali iodua (KI), tinh khiết phân tích;
- Natri axetat ngâm 3 phân tử nước ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), tinh khiết phân tích;
- Axit axetic băng (CH_3COOH), tinh khiết phân tích;
- Natri clorua (NaCl), tinh khiết phân tích;
- Tinh bột tan.

3.3. Chuẩn bị dung dịch

3.3.1. Dung dịch iot gốc

Hòa tan 0,88g iốt và 30-40 ml nước cất đã chứa 2,2g kali iodua và pha thành 100 ml.

3.3.2. Dung dịch iôt 0,0007 N

Hòa tan kali iodua trong 10 - 20 ml nước cất, cho thêm 1 ml dung dịch iod gốc và pha thành 100 ml.
Dung dịch pha mới 2 ngày 1 lần.

3.3.3. Dung dịch đệm axetat pH = 5,3 (1,59 M)

Hòa tan 87g natri axetat vào 400 ml nước cất, cho thêm khoảng 10,5 ml axit axetic băng vào một ít nước và pha thành 500 ml. Đo pH và chỉnh đến 5,3 bằng natri axetat hoặc axit axetic.

3.3.4. Dung dịch natri clorua 0,50 (NaCl 0,5 M): hòa tan 2,9 g natri clorua vào nước cất đã đun sôi và pha thành 100 ml.

3.3.5. Dung dịch tinh bột

- Cân 4 g tinh bột khô khuấy đều với khoảng 90 ml nước cất trong bình tam giác 250 ml. Đun nhanh đến sôi, khuấy đều trong khi đun, để sôi nhẹ trong 3 phút, đậu nắp và làm nguội đến nhiệt độ phòng thí nghiệm. Chuyển sang bình định mức 100 ml và thêm nước đến vạch mức.
- Chỉnh dung dịch tinh bột;

Dùng pipet hút 5 ml dung dịch tinh bột và 10 ml nước cất cho vào bình tam giác lắc đều, đặt vào đó 2 pipet 0,5 ml, sau đó ngâm ở nhiệt độ $40^{\circ}C$. Khi nhiệt độ đã đồng đều và bằng nhiệt độ nồi cách thủy

(khoảng 15 phút) hút ra 0,5 ml dung dịch trên cho vào 1 bình tam giác đã có sẵn 5 mm dung dịch iod 0,0007 N và 1 lượng nước thích hợp (ban đầu cho khoảng 20 ml). Điều chỉnh lượng nước này sao cho chỉ số hấp thụ của dung dịch tinh bột đo trên quang phổ kế ở bước sóng 660 nm đạt được $0,76 \pm 0,2$ (đối chứng là nước cất). Ghi lại số ml nước điều chỉnh được để sử dụng trong phép thử.

3.4. Xác định chỉ số diataza

3.4.1. Chuẩn bị dung dịch mật mẫu:

Cân 5g mật ong mẫu (không đun nóng) chính xác đến 0,0001, hòa tan trong 10 ml nước cất trong cốc có mỏ loại 50 ml, bình định mức 25 ml đã có sẵn 1,5ml dung dịch natri clorua 0,5M, thêm nước cất đến vạch mức.

3.4.2. Tiến hành thử:

Hút 10 ml dung dịch mật ong mẫu cho vào 1 ống nghiệm, ở một ống nghiệm khác cho 5 ml dung dịch tinh bột. Cho 2 ống nghiệm vào nồi cách thủy ở nhiệt độ 40°C .

Khi nhiệt độ ở 2 ống nghiệm đã đồng đều và bằng nhiệt độ nồi cách thủy (khoảng 15 phút sau) để 2 ống nghiệm vào nhau đồng thời bấm giây đồng hồ, đặt vào đó 1 pipet 0,5ml sau 15 phút hút ra 0,5 ml dung dịch đang ngâm thủy phân trong nồi cách thủy cho vào bình tam giác đã có sẵn 5 ml dung dịch iod 0,0007 N và một lượng nước bằng số ml nước dùng để chỉnh dung dịch tinh bột (mục 3.3.5). Lắc đều và đo chỉ số hấp thụ trên máy quang phổ tử ngoại ở bước sóng 660 nm, đối chứng với nước cất.

- Tiếp tục để mẫu thủy phân trong nồi cách thủy để làm lại trong trường hợp chỉ số hấp thụ lớn hơn 0,45.

- Nếu chỉ số hấp thụ đo được nhỏ hơn 0,45 là được.

3.5. Xử lý kết quả

Chỉ số diataza (X) tính bằng đơn vị Gote theo công thức:

$$X = \frac{(-590) \cdot \log E_t - 70,3}{t}$$

Trong đó: - t – thời gian thủy phân

- E_t – logarit của chỉ số hấp thụ trong thời gian t .

- Kết quả là trung bình cộng của ít nhất 2 lần thử đồng thời có giá trị sai lệch sau không quá 0,5.