

THỦY SẢN	!	!
Phương pháp xác định hàm lượng nitơ axit amin	!	TCVN 3708-90 ! !Soát xét lần 1 !
Aquatic products Method for determination of nitrogen amino acid content	!	! Khuyến khích ! ! áp dụng !

Tiêu chuẩn này thay thế TCVN 3708-81, qui định phương pháp xác định hàm lượng nitơ axit amin đối với các nguyên liệu, bán thành phẩm và sản phẩm thủy sản.

1. Lấy mẫu

Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 5276-90.

2. Nguyên tắc chung

Tạo điều kiện thích hợp để đồng phốt phát phản ứng với axit amin tạo thành muối của axit amin (1 ion đồng phản ứng với 2 gốc axit amin). Lọc để loại đồng phốt phát thừa. Thêm axit axetic và kali iodua vào dịch lọc trong. Ion I^- trong môi trường axit khử ion Cu^+ tạo ra I_2 tự do. Chuẩn độ lượng iot được tạo thành bằng dung dịch natri thiosunfat 0,01M.

3. Dụng cụ và hoá chất

- Bình định mức dung tích 25, 1000ml;
- Bình nón dung tích 100ml;
- Buret 25, 50ml;
- Pipet 1, 5, 10ml;
- Phễu thủy tinh;
- Giấy lọc cứng (giấy Whatman số 1, số 3);
- Dung dịch đồng clorua (A) : 27,3g $CuCl_2$ (hoặc 35,4g $CuCl_2 \cdot 12H_2O$) trong 1 lít dung dịch;

- Dung dịch natri photphat (B) : 68,5g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ trong 1 lít dung dịch (hoặc 64,5g Na_2HPO_4 hoà tan trong 500ml nước cất đun sôi để nguội, thêm 7,2g NaOH, sau đó tiếp tục thêm nước cất đun sôi để nguội vào cho đến 1 lít);

- Dung dịch đệm borat pH 8,8 (C) : 28g natri tetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) hoà tan trong 750ml nước cất. Thêm 50ml dung dịch axit clohydric (HCl) 0,1N và thêm nước cất đến 1 lít;

- Hỗn hợp đồng photphat :

- Trộn lẫn 1 thể tích dung dịch (A)
- 2 thể tích dung dịch (B)
- 2 thể tích dung dịch (C)

Cho dung dịch (A) trộn với dung dịch (B), lắc đều rồi cho thêm dung dịch (C);

- Thimolphtalein, dung dịch 0,25% trong etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 50%;

- Natri thiosunfat, dung dịch 0,1M : 24,8g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hoà tan bằng nước cất trong bình định mức dung tích 1000ml, lắc đều, thêm nước cất đến vạch mức. Đựng trong lọ nâu, trước khi dùng, pha loãng 10 lần để có dung dịch 0,01M;

- Natri hydroxyt (NaOH), dung dịch 0,1N;
- Axit axetic (CH_3COOH) đậm đặc;
- Kali iodua (KI) tinh thể;
- Tinh bột, dung dịch 1% trong NaCl bão hoà.

4. Tiến hành thử

Dùng pipet lấy chính xác 5ml nước mẫu đã pha loãng 20 lần vào bình định mức dung tích 25ml, thêm 2 giọt thimolphtalein 0,25% và nhỏ từng giọt dung dịch natri hydroxyt 0,1N vào cho đến khi dung dịch có màu xanh nhạt da trời (pH=10). Sau đó cho thêm 10 - 15ml hỗn hợp đồng photphat, thêm nước cất đến vạch mức. Lắc đều, li tâm hoặc lọc

qua giấy lọc cứng dày sao cho nhận được dịch trong suốt.

Lấy 10ml dịch lọc cho vào bình nón dung tích 100ml, thêm 5 giọt axit axetic đậm đặc và khoảng 0,2 - 0,5g kaliiodua tinh thể, lắc đều, dung dịch có màu vàng của iot.

Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosunfat 0,01M cho đến khi dung dịch có màu vàng nhạt. Thêm 2 - 4 giọt dung dịch tinh bột 1%, dung dịch có màu xanh. Chuẩn độ tiếp cho đến khi dung dịch vừa mất màu. Ghi lượng dung dịch natri thiosunfat 0,01M dùng để chuẩn độ.

Tiến hành xác định mẫu trắng với tất cả lượng hoá chất và các bước thí nghiệm như trên, thay dịch mẫu thử bằng nước cất.

5. Tính kết quả

Hàm lượng nitơ axit amin (X_{11}) tính bằng g/l, theo công thức :

$$X_{11} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,00028 \cdot 25 \cdot 20 \cdot 1000}{5 \cdot 10} = 2,8 \cdot (V_1 - V_2)$$

Trong đó :

- V_1 - Thể tích dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M tiêu tốn khi chuẩn độ mẫu thử, tính bằng ml ;
- V_2 - Thể tích dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M tiêu tốn khi chuẩn độ mẫu trắng, tính bằng ml ;
- 5 - Thể tích mẫu thử đã pha loãng 20 lần, tính bằng ml
- 25 - Thể tích toàn bộ hỗn hợp dịch trước khi lọc, tính bằng ml ;
- 10 - Thể tích dung dịch lọc lấy xác định, tính bằng ml ;
- 0,00028 - Số g nitơ axit amin tương ứng với 1ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M ;
- 1000 - Hệ số tính ra g/l ;

Chú thích :

Để nhận được kết quả chính xác, cần loại bỏ hoàn toàn đồng photphat thừa, bằng cách lọc thật cẩn thận hỗn hợp dịch mẫu thử sao cho nhận được dịch trong suốt.