

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.294 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 20/6/2018 Trang: 2/4
---	----------------------------------	--

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng.

- Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định N axit amin đối với các nguyên liệu, bán thành phẩm và sản phẩm từ thủy sản.

II. Tài liệu tham khảo.

- Phương pháp này dựa trên: TCVN 3708:1990

III. Nguyên tắc.

- Tạo điều kiện thích hợp để đồng photphat phản ứng với acid amin tạo thành muối của acid amin (1 ion Cu phản ứng với 2 gốc acid amin). Lọc để loại đồng photphat thừa. Thêm acid acetic và KI vào dịch lọc. Ion I⁻ trong môi trường acid khử ion Cu⁺, tạo ra I₂ tự do. Chuẩn độ lượng iod tạo thành bằng dung dịch Na₂S₂O₃ 0.01M.

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 (thao tác pha axit HCl 8M và sử dụng hexan...)
- 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

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

- Bình định mức các loại.
- Erlen 100ml.
- Buret, 25 ml, được chia độ đến 0,05 ml.
- Pipet các loại.
- Phễu lọc và giấy lọc.

II. Hoá chất và chất chuẩn.

Chỉ sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, trừ khi có quy định khác và nước được sử dụng phải là nước cất, nước đã loại khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương.

- Dung dịch đồng clorua (A): cân 27.3g CuCl₂ pha trong nước cất thành 1L dung dịch.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.294 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 20/6/2018 Trang: 3/4
---	--	--

- Dung dịch natri photphat (B): 68.5g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ trong 1L dung dịch (hoặc 64.5g Na_2HPO_4 hòa tan trong 500ml nước, thêm 7.2g NaOH, sau đó tiếp tục thêm nước tới 1L).
- Dung dịch đệm borat pH 8.8 (C): 28g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ trong 750ml nước cất. thêm 50ml dung dịch HCl 0.1N và thêm nước cất tới vạch 1L.
- Hỗn hợp đồng photphat: trộn dung dịch A, B rồi C theo tỷ lệ sau: 1:2:2, trộn A với B, lắc đều rồi thêm C
- Thimolphtalein 0.25% trong etanol 50%.
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1N: 24.8g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hòa tan trong nước và định mức thành 1L dung dịch. Lắc đều, đựng trong lọ màu nâu trước khi dung, pha loãng 10 lần để được dung dịch 0.01N.
- NaOH 0.1N.
- Acid acetic đậm đặc.
- KI tinh thể.
- Tinh bột 1% trong NaCl bão hòa.

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 hóa chất:
- Mẫu lặp

VI. xử lý mẫu.

- Hút 5ml mẫu sau khi được pha loãng 20 lần vào bình định mức 25ml, thêm 2 giọt thimolphtalein 0.25% và nhỏ từng giọt NaOH 0.1N đến khi dung dịch có màu xanh nhạt da trời (pH=10). Sau đó thêm 10-15ml hỗn hợp đồng photphat, thêm nước cất tới vạch. Lắc đều, ly tâm và lọc để được dung dịch trong suốt. **(Chú ý dịch lọc phải trong suốt)**
- Lấy 10ml dung dịch sau lọc vào erlen 100ml, thêm 1ml acid acetic đậm đặc và khoảng 0.2-0.5g KI, lắc đều, dung dịch có màu vàng của iod .
- Chuẩn độ bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01N cho đến khi dung dịch có màu vàng rơm, thêm vài giọt hồ tinh bột tiếp tục chuẩn đến khi mất màu.
- Tiến hành làm mẫu trắng với cùng lượng thuốc thử như mẫu, thay mẫu bằng nước cất.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.294 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 20/6/2018 Trang: 4/4
---	----------------------------------	--

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

Tổng hàm lượng nitơ acid amin tính bằng gN/L, theo công thức sau:

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.00028 \times 25 \times f \times 1000}{10 \times 5}$$

trong đó:

V_1 là thể tích dung dịch Na₂S₂O₃ 0.01M chuẩn độ mẫu thử, tính bằng (ml);

V_0 là thể tích dung dịch Na₂S₂O₃ 0.01M chuẩn độ mẫu trắng, tính bằng (ml);

f là hệ số pha loãng

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

Khác nhau kết quả của 2 lần xác định được tiến hành đồng thời hoặc kế tiếp nhau nhanh do cùng một kiểm nghiệm viên làm, không được vượt quá giá trị cho phép trong bảng sau:

No.	Hàm lượng	RSD, %
1	100%	1.3
2	10%	1.8
3	1%	2.7
4	0.10%	3.7
5	100ppm	5.3
6	10ppm	7.3

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu:

- BM.15.04b
- BM.15.06