

!	THỦY SẢN	!	!
!	Phương pháp xác định hàm lượng	!	TCVN 3705-90 !
!	nitơ tổng số và Protein thô	!	Soát xét lần 1!
!		!	-----!
!	Aquatic products	!	Khuyến khích !
!	Method for determination of	!	áp dụng !
!	total nitrogen and protein contents	!	!
!		!	-----!

Tiêu chuẩn này thay thế TCVN 3705-81, qui định phương pháp xác định hàm lượng nitơ tổng số và protein thô đối với các nguyên liệu, bán thành phẩm và sản phẩm thủy sản.

1. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ TỔNG SỐ

1.1. Lấy mẫu

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

1.2. Nguyên tắc chung

Vô cơ hoá mẫu thử bằng axit sunfuric đậm đặc, nitơ có trong mẫu thử chuyển thành amon sunfat. Dùng kiềm đặc đẩy amoniac ra khỏi amon sunfat trong máy cất đạm, tạo thành amon hydroxyt, rồi định lượng bằng axit.

1.3. Dụng cụ và hoá chất

- Máy cất đạm;
- Bình kندان, dung tích 100, 250ml;
- Bình định mức dung tích 100ml;
- Ống đong dung tích 10, 100ml;
- Buret 25ml;
- Pipet 10, 20, 50ml;
- Bình nón, dung tích 250ml;
- Chén cân;
- Phễu thủy tinh;
- Thìa nhựa;

- Bếp điện;
- Giấy lọc không tro;
- Giấy đo pH;
- Cân phân tích, độ chính xác 0,001 g;
- Axit sunfuric (H_2SO_4) đậm đặc và dung dịch 0,1N;
- Natri hydroxyt (NaOH), dung dịch 33% và dung dịch 0,1N;
- Hỗn hợp xúc tác : đồng sunfat (CuSO_4) + Kali sunfat (K_2SO_4), tỷ lệ 1/10 (theo khối lượng);
- Chỉ thị hỗn hợp : 200mg đỏ metyl và 100mg xanh metylen hoà tan trong 200ml etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 96%;
- Phenolphthalein, dung dịch 1% trong etanol 60%.

1.4. Tiến hành thử

Cân chính xác 0,3 - 0,5g mẫu thử vào một mẫu giấy lọc không tro, cuộn lại, cho vào bình kندان sao cho mẫu thử không dính vào cổ bình, cho tiếp 1g hỗn hợp xúc tác và 10ml axit sunfuric đậm đặc.

- Nếu mẫu thử là các loại mắm đặc : cho một ít mẫu thử vào chén cân cùng với một thìa nhựa lấy khoảng 0,5g mẫu thử vào mẫu giấy lọc không tro, cuộn lại, cho vào bình kندان để vô cơ hoá. Thìa nhựa lại đặt vào bình cân, cân khối lượng còn lại được M_2 . Hiệu số giữa hai lần cân là khối lượng mẫu thử đã lấy để phân tích.

- Nếu mẫu thử là nước mắm : Dùng pipet lấy chính xác 10ml nước mắm đã lọc cho vào bình định mức dung tích 200ml, thêm nước cất đến vạch mức, lắc đều. Hút chính xác 20ml dịch pha loãng cho vào bình kندان, thêm chất xúc tác và 3 - 5ml axit sunfuric đặc vào để vô cơ hoá.

Dùng phễu nhỏ đầy bình kندان, đặt bình nghiêng 40 độ trên bếp điện trong tủ hốt. Đun 15 - 20 phút sao cho chất lỏng trong bình không sủi phồng, không bắn lên cổ bình (có thể để qua đêm rồi mới đun). Sau đó đặt bình thấp gần bếp

hơn cho tới khi dịch vô cơ hoá trong bình trong suốt hoặc trong xanh (không được có màu vàng nhạt) mặt trong bình hoàn toàn trong sạch. Ngừng đun, để nguội.

Trong quá trình đun, nếu thấy mẫu không trắng, ngừng đun, để nguội, cho thêm khoảng 0,5g chất xúc tác vào rồi tiếp tục đun. Nếu thấy mẫu còn đen mà đã cạn, thì lấy ra để nguội, cho thêm khoảng 3ml axit sunfuric đậm đặc vào và tiếp tục đun cho tới khi dung dịch đạt yêu cầu như trên.

Lấy chính xác một lượng axit sunfuric 0,1N không lớn hơn 25ml (tùy theo từng loại mẫu thử) và 5 giọt chỉ thị hỗn hợp vào bình nón dung tích 250ml, đặt bình vào dưới ống sinh hàn của máy cất đạm sao cho đầu ống sinh hàn ngập hẳn vào dung dịch.

Cho cẩn thận dịch đã vô cơ hoá vào bình cất, tráng bình kندان nhiều lần bằng nước cất cho đến khi nước trắng hết phản ứng axit (thử bằng giấy đo pH). Cho tiếp vào bình cất 5 giọt phenolphthalein 1% và dung dịch natrihydroxyt 33% cho đến khi dung dịch trong bình chuyển thành màu hồng, cho tiếp vào một ít dung dịch kiềm, tráng nước cất cho sạch kiềm ở phễu rồi khoá máy lại. Cuối cùng cho một lớp nước cất cao 1,5 - 2cm trên phễu để kiểm tra độ kín của máy. (Ghi toàn bộ lượng nước cất đã dùng để biết lượng nước cất cho vào khi chuẩn độ mẫu trắng).

Cho nước lạnh chảy qua ống sinh hàn và bắt đầu chưng cất liên tục trong 40 phút kể từ khi dung dịch trong bình bắt đầu sôi. Hạ bình hứng để ống sinh hàn lên khỏi mặt nước, dùng bình tia rửa đầu ống sinh hàn, tiếp tục chưng cất một vài phút nữa. Sau đó hứng nước chưng chảy ra ở đầu ống sinh hàn, thử bằng giấy đo pH thấy không có phản ứng kiềm là được.

Dùng natri hydroxyt 0,1N chuẩn độ lượng axit dư trong bình hứng cho đến khi dung dịch trong bình chuyển từ màu tím sang xanh lá mạ.

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

1.5. Tính kết quả

Hàm lượng nitơ tổng số (X_7) tính bằng phần trăm theo công thức :

$$X_7 = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0014 \cdot 100}{m}$$

Trong đó :

V_1 - Thể tích dung dịch natri hydroxyt 0,1N tiêu tốn khi chuẩn độ mẫu trắng, tính bằng ml;

V_2 - Thể tích dung dịch natri hydroxyt 0,1N tiêu tốn khi chuẩn độ mẫu thử, tính bằng ml;

m - Khối lượng mẫu thử, tính bằng g;

0,0014 - Số g nitơ tương ứng với 1ml dung dịch natri - hydroxyt 0,1N;

100 - Hệ số tính ra phần trăm.

Chú thích :-

Đối với nước mắm, mẫu thử được pha loãng 20 lần, lấy 20ml dịch pha loãng để xác định.

Hàm lượng nitơ tổng số (X_7) được tính bằng g/l theo công thức :

$$X_7 = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0014 \cdot 20 \cdot 1000}{10} = 2,8 (V_1 - V_2)$$

Trong đó :

20 - Độ pha loãng của nước mắm;

10 - Thể tích nước mắm đã pha loãng lấy để xác định, tính bằng ml;

1000 - Hệ số tính ra g/l;

Các ký hiệu khác như đã ghi ở trên.

2. PHƯƠNG PHÁP TÍNH HÀM LƯỢNG PRÔTEIN THÔ

Hàm lượng nitơ trung bình trong phân tử protein của sản phẩm thủy sản là 16%. Vì vậy hàm lượng protein thô trong mẫu thử bằng hàm lượng nitơ tổng số nhân với hệ số 6,25.

Hàm lượng protein thô (X_8) tính bằng phần trăm theo công thức :

$$X_8 = X_7 \cdot 6,25$$

Trong đó :

- X_7 - Hàm lượng nitơ tổng số, tính bằng phần trăm;
 - 6,25 - Hệ số chuyển nitơ tổng số ra protein thô
($100:16 = 6,25$).
-