



水產試驗所

English

Home

Main

Back

揮發性鹽基態氮測定方法

謝素琴

水產試驗所水產加工系

一、定義

揮發性鹽基態氮(volatile basic nitrogen, VBN)係指水產品和其他食物,其組成份經由微生物或酵素的作用所生成的胺類及氨等產物的總稱。這些生成物在鹼性中為揮發性物質。

二、水產品揮發性鹽基態氮的來源

(一) 蛋白質、胺基酸等及其分解產物。

(二) 氧化三甲胺(TMAO)經由氧化還原反應而生成三甲胺(TMA)、二甲胺(DMA)等產物。

(三) 其他:如板鰓類肌肉中之尿素。

三、揮發性鹽基態氮與水產品鮮度之關係

魚介類於新鮮時其肉中的揮發性鹽基態氮含量甚低,因此當含量稍稍增加時,即可得知其鮮度已趨低下,因此,可容易的判別魚介類的鮮度。我們可以使用以下的簡單示意圖來說明揮發性鹽基態氮與肉質鮮度的關係:

揮發性鹽基態氮 (mg / 100 g)

5

20

30

40

50

肉質極佳	肉質尚佳	肉質軟化	肉質腐敗
(極新鮮)	(新鮮)	(初期腐敗)	(腐敗)

四、揮發性鹽基態氮標準

依據中國國家標準 (CNS 3732) 冷凍魚類項下3.12揮發性鹽基態氮：檢體100 g中其含量應在25 mg以下 (即250 ppm以下)，但板鰓類 (鯊魚) 可在50 mg以下 (即500 ppm以下)。

五、檢測方法

採用康威 (Conway) 氏微量擴散法測定之。

1. 試藥調配

(1) 2.2% 三氯醋酸 (trichloroacetic acid, TCA; Cl_3CCOOH) 溶液：

稱取三氯醋酸2.2 g，加蒸餾水溶解之並定容至100 mL。

(2) 飽和碳酸鉀 (potassium carbonate, K_2CO_3) 溶液：

稱取碳酸鉀110 g，溶解於蒸餾水100 mL中，溶解時會發熱，待其冷卻後倒入耐熱之玻璃瓶中，並放入數個玻璃球，先用強火，再漸減火力，煮沸10 min(以去除碳酸鉀中所含有的微量的氨)，放冷後常可析出少量之碳酸鹽，是為飽和溶液。

(3) 0.03 % 溴甲酚綠 (bromocresol green, BCG) 酒精溶液：

稱取0.03 g 溴甲酚綠，以95%酒精溶解之並定容至100 mL。

(4) 0.06% 甲基紅 (methyl red, MR) 酒精溶液：

稱取甲基紅0.06 g，以95%酒精溶解之並定容至100mL。

(5) 硼酸 (boric acid, H_3BO_3) 吸收液：

- a. 稱取硼酸 10 g ;
- b. 加 95 % 酒精 200 mL 攪拌使硼酸溶解 ;
- c. 加 5 mL 的 0.03 % 溴甲酚綠酒精溶液 ;
- d. 加 5 mL 的 0.06 % 甲基紅酒精溶液 ;
- e. 加蒸餾水並定容至 1000 mL , 保於褐色瓶中。

(6) 膠著劑 :

良質凡士林。

(7) N/50 鹽酸 (HC1) :

配妥之 N/50 鹽酸需標定其力價 (factor)。

2. 供試液之調製

稱取已細切魚肉 2 g

加入 18 mL 的 2.2 % 三氯醋酸溶液

以均質機攪碎或以研钵研磨

靜置 10 min

離心或過濾:

1. 上澄液或濾液 (供試液)。 2. 沉澱或濾渣 (丟棄之)

3. 測定操作

每件檢體要做二 三重覆, 即要用 2 3 個康威氏皿。

**先將康威氏皿 (又名微量檢測器) 邊緣塗上膠著劑凡士林
並蓋上蓋子壓緊, 使康威氏皿成密閉狀態**

打開蓋子, 吸取 1 mL 硼酸吸收液注入康威氏皿內室中
吸取 1 mL 供試液注入康威氏皿外室右邊
並使康威氏皿蓋子微開

吸取 1 mL 飽和碳酸鉀溶液注入康威氏皿
外室左邊並緊蓋康威氏皿蓋子

扣上固定器，輕輕轉動康威氏皿，使外室中
之供試液和飽和碳酸鉀溶液充分混合

將康威氏皿移入 37℃ 恆溫箱中，
經保溫 90 min 後，取出放冷

小心打開康威氏皿蓋子，以 N/50 HCl 滴定
內室液至呈現桃紅色為止，記下
N/50 HCl 消耗的 mL 量

4. 空白試驗：

另外使用 2.2% 三氯醋酸代替供試液，參照測定操作進行空白試驗；讀出 N/50 HCl 的消耗 mL 量(本試驗做 2 組，並取其平均值)。

5. VBN 的計算式：

$$\text{VBN (mg/100g)} = 0.28 * X (A-B) * F * 100 / 0.1$$

A：供試液中以 N/50 HCl 滴定所消耗的 mL 量

B：空白試驗中以 N/50 HCl 滴定所消耗的 mL 量

F：N/50 HCl 的力價(Factor)

0.28*相當於 N/50 HCl 1 mL 的氮量(mg)

六、標定 N/50 HCl 的力價(factor)之方法

1. 0.1N 氫氧化鈉(NaOH)標準溶液之配製

以粗天平迅速稱取 4 g NaOH 於 100 mL 燒杯內，加蒸餾水溶解之，冷卻後定容至 1000 mL。因氫氧化鈉溶液易吸收二氧化碳而改變力價，故一般每隔二星期標定一次，若長時間不再有沉澱析出時，使用前需先過濾再行標定。

2. 0.1N 氫氧化鈉(NaOH)標準液之標定

(1) 粗秤 1.0 ~ 2.0 g 左右對苯二甲酸氫鉀(potassium acid phthalate, KHP, $\text{KC}_6\text{H}_4\text{COCOOH}$)，於 105℃ 乾燥 3 hr，置乾燥器中冷卻。

(2) 精稱0.3 0.4 g KHP三份, 分別置250 mL錐形瓶中, 各加50 mL蒸餾水, 微熱, 使其完全溶解, 冷卻之。

(3) 滴入1%酚 (phenolphthalein, PP)指示劑2滴。

* 1%酚 指示劑 :

1 g PP溶於90 mL 95%酒精與10 mL蒸餾水的混合液中, 但酚 (若係二鈉鹽, 則可直接溶於水。

(4) 用0.1N氫氧化鈉(NaOH)標準溶液滴定至呈淡粉紅色為止。

NaOH標準溶液之實際濃度(N)=(1000 X KHP g量)/(NaOH標準溶液滴定mL量x204.2)

3. N/50鹽酸(hydrochloric acid, HCl)標準溶液

(1) 配製

取HCl (36.5-38%) 1.72 mL, 以蒸餾水定容至1000 mL。

(2) 標定

取20 mL N/50 HCl溶液, 加2~3滴1%酚 指示劑, 以已知濃度NaOH標準溶液滴定至呈粉紅色。

N/50HCl溶液之實際濃度(N)= NaOH標準溶液之實際濃度X滴定量(mL) / (N/50 HCl標準溶液之用量(mL))

4. N/50 HCl其力價(factor)之計算式 :

$F=N/50 \text{ HCl 溶液之實際濃度(N)}/0.02N$

例一：0.1N NaOH標準溶液濃度之標定

*	KHP用量	NaOH 滴定量	個別值	實際濃度
1	0.3579 g	18.55 mL	0.9448	
2	0.3333 g	17.05 mL	0.9573	0.9354
3	0.3702 g	20.25 mL	0.9042	

例二：0.02N HCl標準溶液濃度之標定

	0.02N HCl用	NaOH 滴定量	個別值	力價

★	量			
1	15 mL	3.05 mL	0.9510	
2	15 mL	3.08 mL	0.9603	0.9510
3	15 mL	3.02 mL	0.9416	

例三：取魚肉檢體2 g檢測其揮發性鹽基態氮之含量

★	0.02N HCl用量	VBN值	平均值
空白組1	0.003 mL	*	
空白組2	0.005 mL	*	0.004 mL
1	0.075 mL	18.91	
2	0.078 mL	19.70	18.91 mg/100 g
3	0.072 mL	18.11	