

水產品中揮發性鹽基態氮之檢驗方法

Method of Test for Volatile Basic Nitrogen in Aquatic Products

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於水產品中揮發性鹽基態氮(volatile basic nitrogen, VBN)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經蛋白質沉澱後，以康氏微量擴散法(Conway microdiffusion)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.2. 烘箱(Oven)：溫度控制可達270°C以上者。
 - 2.2. 試藥：三氯醋酸(trichloroacetic acid)、溴甲酚綠(bromocresol green)、無水碳酸鈉、溴酚藍(bromophenol blue)、甲基紅(methyl red)、乙醇(95%)、硼酸、碳酸鉀及鹽酸均採用分析級；凡士林；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 濾紙。
 - 2.3.2. 康氏皿(Conway dish)。
 - 2.3.3. 水平微量滴定管：0.15 mL，最小刻度為0.002 mL。
 - 2.3.4. 容量瓶：20 mL及100 mL。
 - 2.3.5. 玻璃棒。
 - 2.4. 試劑之配製
 - 2.4.1. 2.2%三氯醋酸溶液：

取三氯醋酸2.2 g，以去離子水溶解使成100 mL。
 - 2.4.2. 溴甲酚綠指示劑：

取溴甲酚綠0.03 g，以乙醇溶解使成100 mL。
 - 2.4.3. 甲基紅指示劑：

取甲基紅0.06 g，以乙醇溶解使成100 mL。
 - 2.4.4. 乙醇：去離子水(1:1, v/v)溶液
取乙醇與去離子水以1：1 (v/v)比例混勻。
 - 2.4.5. 溴酚藍試液：

取溴酚藍0.1 g，以乙醇：去離子水(1:1, v/v)溶液溶解使成100mL，必要時過濾。

2.4.6. 硼酸吸收液：

取硼酸10 g，精確稱定，加入乙醇200 mL及去離子水700 mL，混合均勻，加入溴甲酚綠指示劑及甲基紅指示劑各5 mL，再加去離子水使成1000 mL。

2.4.7. 飽和碳酸鉀溶液：

取碳酸鉀約110 g，加入去離子水100 mL，攪拌加熱煮沸10分鐘，直至碳酸鉀固體不再溶解，冷卻後，取上清液，供作飽和碳酸鉀溶液。

2.4.8. 0.02 N鹽酸溶液：

取鹽酸1.7 mL，以去離子水定容至1000 mL，混合均勻，供作本液，按照下列方法測定其力價。取預經約270°C乾燥1小時之無水碳酸鈉約0.03 g，精確稱定，用去離子水100 mL溶解後，加溴酚藍試液2滴為指示劑，以本液滴定之，當接近終點時煮沸1次，以趕出二氧化碳後立即滴定至終點至藍色消失。根據滴定結果按照下列方式計算其力價。

$$\text{力價} = \frac{\text{無水碳酸鈉之採取量(g)} \times 1000}{0.02 \text{ N 鹽酸溶液之消耗量(mL)} \times 1.06}$$

2.5. 檢液之調製：

將檢體細切均質後，取約2 g，精確稱定，以2.2%三氯醋酸溶液定容至20 mL，充分攪拌混合後，靜置10分鐘，以濾紙過濾，供作檢液。取去離子水2 mL，加入2.2%三氯醋酸溶液18 mL充分混勻後，依上述步驟同樣操作，供作空白檢液。

2.6. 含量測定：

於康氏皿之外緣與蓋子之擦合面塗凡士林，將蓋子擱於康氏皿之一邊，露出一半之康氏皿，取硼酸吸收液1 mL，置於康氏皿之內室，以蓋子掩蓋內室，只讓外室露出，取飽和碳酸鉀溶液1 mL，置於康氏皿外室之一側，再加入檢液1 mL於外室之另一側，隨即閉蓋，並以固定器固定之。輕輕轉動，使外室內容物充分混合，但應注意外室之溶液不可溢出至內室。將康氏皿平放於37°C烘箱中，靜置90分鐘後取出(取

出或置入時應注意保持平穩)，於室溫中以0.02 N鹽酸溶液滴定內室之溶液，並以玻璃棒輕輕攪拌之，當內室溶液之液色呈粉紅色時即終止滴定，另取一康氏皿，依上述步驟加入空白檢液1 mL，進行空白試驗。並依下列計算式求出檢體中揮發性鹽基態氮之含量(mg/100 g)：

$$\text{檢體中揮發性鹽基態氮之含量(mg/100 g)} = \frac{(C - B) \times f \times 0.28 \times V \times 100}{W}$$

C：檢液之0.02 N鹽酸溶液之滴定消耗量(mL)

B：空白檢液之0.02 N鹽酸溶液之滴定消耗量(mL)

f：0.02 N鹽酸溶液之力價

0.28：每mL之0.02 N鹽酸溶液相當於0.28 mg之VBN

V：檢體定容之體積(20 mL)

W：取樣分析檢體之重量(g)

附註：檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. 日本藥學會。2015。衛生試驗法·註解。203-204頁。金原出版株式會社。東京，日本。
2. Hasegawa, H. 1987. Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products. Marine Fisheries Research Department Southeast Asian Fisheries Development Center. Singapore.