الملحق رقم 3

تحديد مقدار الآزوت القاعدي المتبخر كليّا (ABVT) عند الأسماك والمواد ذات القاعدة السمكية : الطريقة المرجعية.

1 ـ موضوع التطبيق ومجاله :

تتمثل هذه الطريقة في إجراء مرجعي يسمح بتبيّن نسبة الآزوت في القواعد الأزوتية المتبخرة (ABVT) عند الأسماك والمواد ذات القاعدة السمكية وتنطبق هذه الطريقة على المقادير من الآزوت القاعدي المتبخر كليّا التي تتراوح بين 5 ملغ / 100 غ و100 ملغ / 100 غ على الأقل.

2 ـ التعريف :

يقصد بالمقدار من الآزوت القاعدي المتبخر كليّا (ABVT) نسبة الآزوت الموجودة في القواعد الأزوتية المتبخرة والتي تحددها الطريقة المرجعية ويعبر عن هذه الكمية بحساب ملغ / 100 غ.

3 ـ الوصف :

تستخرج القواعد الأزوتية المتبخرة من عينة بواسطة محلول من الحامض البركلوريكي (0،6). ويخضع المستخلص إلى تقطير بالبخار بعد تقليته، كما تمتص المركبات القاعدية المتبخرة بواسطة متقبل حامضي ويحدد مقدار الآزوت القاعدي المتبخر كليّا (ABVT) بمراكزة القواعد الممتصة.

4 ـ المواد الكيميائية :

يجب استعمال المواد الكيميائية المناسبة ككواشف ما عدا التنصيصات المخالفة.

يجب أن يكون الماء المستعمل مقطر أو وقعت إزالة المعدنيات منه أو من نفس النقاوة على الأقل. وما عدا التنصيصات المخالفة يقصد «بالمحلول» كل محلول مائي.

4ـ1 محلول الحامض البركلوريكي = 6 غ / 100 مل.

4ـ2 محلول الصودا الكاوية = 20 غ / 100 مل.

4ـ3 المحلول النموذجي للحامض الكلوريدريكي = 0،05 جزيئة / لتر.

ملاحظة : يجب أن تتم المراكزة بمحلول نموذجي للحامض الكلوريدريكي بنسبة 0،01 جزيئة / لتر في حالة القيام بالتقطير بواسطة آلة أوتوماتيكية.

4ـ4 محلول حامض البوريق = 3 غ / 100 مللتر.

4ـ5 عنصر ضد الرغوة بالسيلكون.

4ـ6 محلول فينولفتالين = 1 غ / 100 مللتر من الإيتانول 95٪.

4ـ7 المحلول الدليل (TMI) = حل 2 غرامات من أحمر الميتيل وغرام واحد من أزرق الميتيلان في 1000 مللتر من الإيتانول 95٪.

5 ـ الأدوات واللوازم :

5ـ1 فرامة لحم قادرة على إعطاء سمك مفروم متجانس.

5ـ2 مخلط سريع ذو قدرة دوران تتراوح بين 8000 و45000 دورة / دقيقة.

5ـ3 مصفاة متموجة ذات قطر يبلغ 150 ملمتر وتصفية سريعة.

5ـ5 قطارة تتسع لـ 5 مللتر ومرقمة إلى حدّ 0،01 مللتر.

5ـ6 جهاز تقطير بالبخار.

ويجب أن يكون بوسع هذا الجهاز تنظيم افرازات البخار وإنتاج كمية مستقرة منه على إمتداد فترة معينة. ويجب صنعه بطريقة تمنع القواعد الحرة من الإفلات عند ضمّ مواد التقلية.

6 ـ التنفيذ :

تنبيه : يجب عند إستعمال الحامض البركلوريكي شديد الاذابة، اتخاذ الإجراءات والإحتياطات الوقائية اللازمة.

ويجب الحرص قدر الإمكان على تحضير العينات تماشيا مع النقطة 6ـ1 بأقصى سرعة وبمجرّد وصولها.

6ـ1 تحضير العينة :

فرم العينة المراد تحليلها بعناية في فرامة لحم وفق النقطة 5ـ1 ووزن 10 غرامات زائد أو ناقص 0،1 غ من العينة المفرومة في وعاء مناسب ثم خلط 90 مللتر من محلول الحامض البركلوريكي وفق النقطة 4ـ1 ،مجانسته لدقيقتين في مخلط وفق النقطة 5ـ2 ثم تصفيته.

ويمكن الحفاظ على المستخلص المتحصل عليه مدة 7 أيام على الأقل في حرارة تتراوح بين 2 و6 درجات مائوية.

6ـ2 التقطير بالبخار :

وضع 50 مللتر من مستخلص متحصل عليه وفق النقطة 6ـ1 في جهاز تقطير بالبخار وفق النقطة 5ـ5 قصد التثبت مرة أخيرة إن كانت تقلية المستخلص كافية كذلك إضافة عدة قطرات من الفينولفتاليين وفق النقطة 4ـ6 وزيادة بعض القطرات من عنصر ضدّ الرغوة بالسيليكون وزيادة 6،5 مللتر من محلول الصودا الكاوية إلى المستخلص وفق النقطة 4ـ2 ثم مباشرة التقطير بالبخار فورا.

كما يجب تعيير التقطير بواسطة البخار للحصول على قرابة 100 مللتر من القطارة في ظرف 10 دقائق.

ويجب غمر أنبوب خروج القطارة في متقبل يحتوي 100 مللتر من محلول حامض البوريق وفق النقطة 4ـ4 التي يجب إضافة 3 إلى 5 قطرات من «المحلول الدليل» إليها والمبيّن بالنقطة 7ـ4.

ويجب انهاء التقطير في ظرف 10 دقائق وكذلك رفع أنبوب الخروج لقطارة المتقبل وغسله بالماء ويجب تحديد القواعد المتبخرة الموجودة في محلول المتقبل بواسطة المراكزة في محلول نموذجي من الحامض الكلوريدريكي وفق النقطة 3ـ4.

ويجب أن تكون نسبة ph في النقطة النهائية مساوية لـ 5 زائد أو ناقص 0،1.

6ـ3 المراكزة :

يجب القيام بالتحاليل مرتين وتعتبر الطريقة صحيحة إذا كان الفارق بين التحليلين لا يتجاوز 2 ملغ / 100 غ.

6ـ4 التجربة البيضاء :

يتعيّن القيام بتجربة بيضاء وفق النقطة 6ـ2 وعوض المستخلص يقع استعمال 50 مللتر من محلول حامض البركلوريك وفق النقطة 4ـ1.

7 احتساب الآزوت القاعدي المتبخر كليّا : (ABVT) :

يقع احتساب نسبة الآزوت القاعدي المتبخر كليّا بواسطة مراكزة محلول الحامض الكلوريدريكي الموجود في المتقبل وفق النقطة 4ـ3 وذلك اعتمادا على القاعدة التالية :

الآزوت القاعدي المتبخر كليّا (المعبر عنه بحساب الملغ / 100 غ من العينة)

$$= \frac{(VI-VO) \times 0{،}14 \times 2 \times 100}{M}$$

VI : حجم محلول الحامض الكلوريدريكي بحساب 0،01 غ / مللتر والمستعمل للعينة.

VO : حجم محلول الحامض الكلوريدريكي بحساب 0،01 غ / مللتر والمستعمل للتجربة البيضاء.

M : وزن العينة بحساب الغرام.

الملاحظات :

1 ـ يجب القيام بالتحاليل مرتين على الأقل وتكون الطريقة المستعملة صحيحة في حالة عدم تجاوز الفارق بين التحليلين 2 ملغ / 100 غ.

2 ـ فحص التجهيزات بتقطير المحولات NH4CL والمساوي لـ 50 ملغ من الآزوت القاعدي المتبخر كليّا (ABVT) / 100 غ.

3 ـ الانعطاف النموذجي للإخصاب :SR = 1،20 ملغ / 100 غ.

ـ الانعطاف النموذجي للمقارنة :SR = 2،5 ملغ / 100 غ.