

實驗開始前

持證件找吳技士借用綜一館308卡/抽風櫃鑰匙、預約使用時間



- 吳技士 LINE ID:
Peter6672
- 0989024006

請加吳技士LINE，使用前後請確實
拍照後上傳，未依規定上傳照片將
停止使用申請1個月！謝謝合作！
連絡電話：0989024006

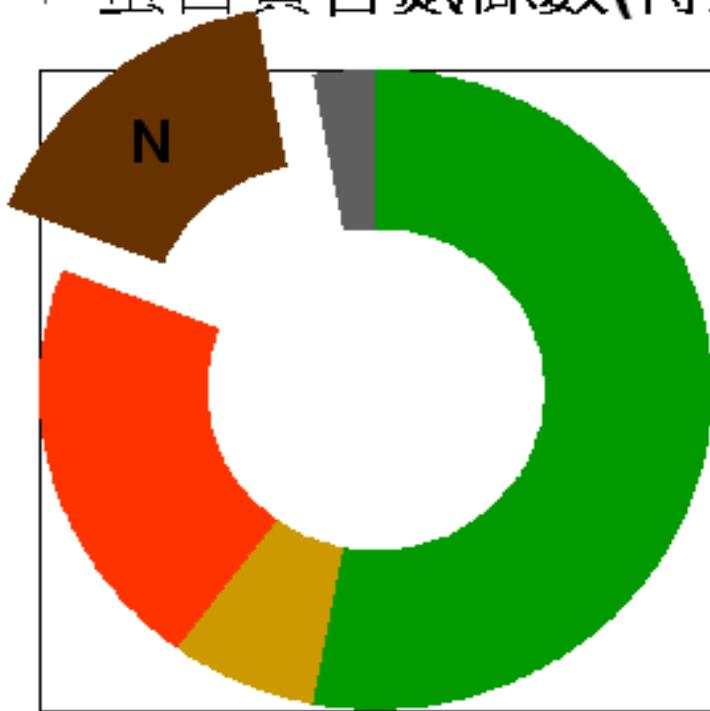


粗蛋白測定

基本概念

- 蛋白質與其他營養成分比較時，有一特徵為其構成元素的氮含量一定，所以藉由測定氮含量，即可由氮含量換算出蛋白質含量。
- 蛋白質的元素組成如下：碳52.5%、氧21.5%、氮16%、氫7%、硫1.3%，食品中除了蛋白質外還有其它含氮化合物，但以蛋白質中居多。
- 因此一般測定食品中含氮量，再乘以氮係數 6.25 (100/16) 即可求出食品中粗蛋白質的含量。

- 蛋白質由胺基酸組成-含氮(N)量穩定(~16%)
- 蛋白質含氮係數(轉換係數)



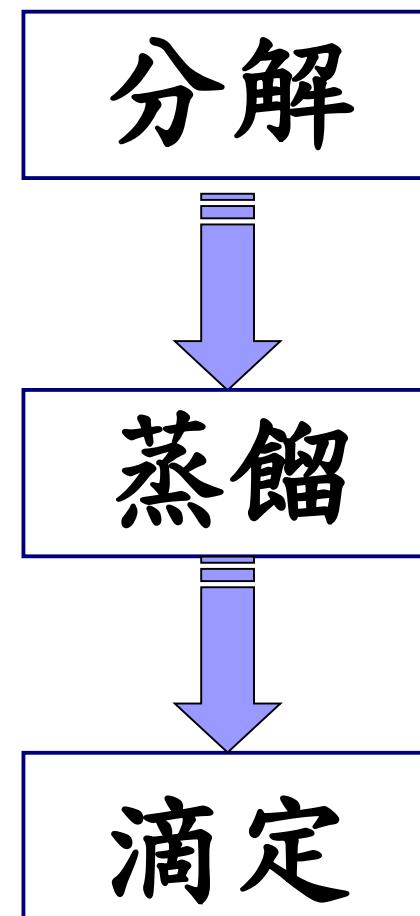
$$100 \div 16 = 6.25$$

■ 碳~53%
■ 氢~7%
■ 氧~21%
■ 氮~16%
■ 硫~3%

CNS規範各種食品中蛋白質含氮係數

食品名稱	轉換係數	食品名稱	轉換係數
小麥粉(中等質，硬質及軟質含麥粉 94-100%者)	5.83	粟	6.31
小麥粉(中等質，含麥粉 83 至 93%者)	5.70	米	5.95
小麥及其加工品(包括麵類)	5.70	乳及乳製品、人造奶油	6.38
南瓜、西瓜、向日葵等種子	5.40	動物膠(Gelatin)及其加工品	5.55
大麥、燕麥、黑麥	5.83	粟、胡麻、胡核	5.30
花生(落花生)	5.46	其他食品	6.25
大豆及大豆製品	6.25		

實驗流程

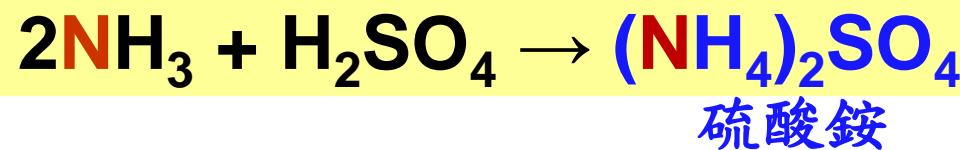




1. 分解



將樣品與濃硫酸一起加熱分解，硫酸會使樣品脫水，並破壞其中的有機物，使有機物的碳和氫被氧化生成二氧化碳和水，經過加熱而蒸發，蛋白質分解產生氮。



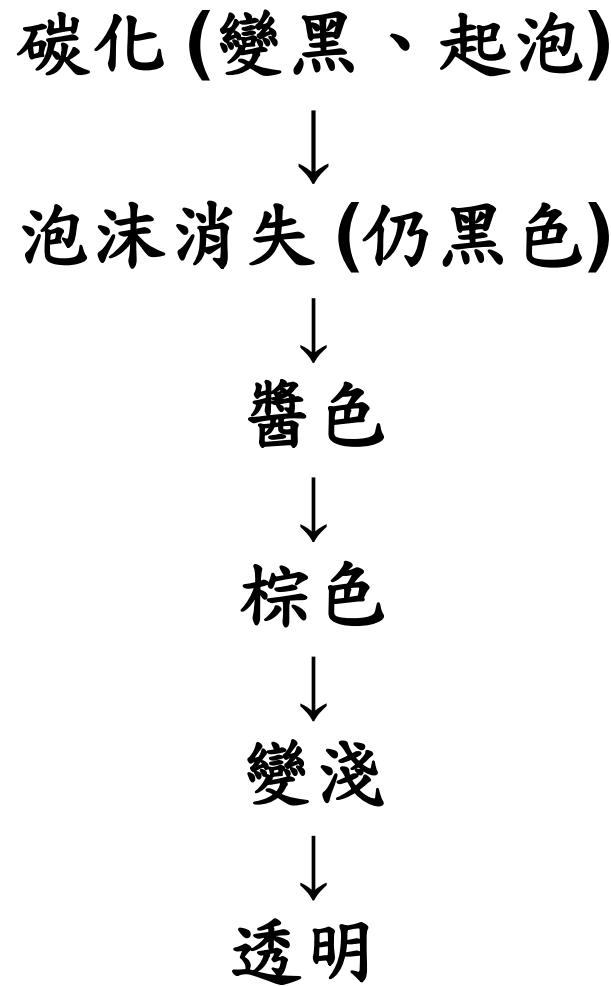
氨與硫酸結合生成硫酸銨，並殘留在酸性溶液中，而二氧化碳和水則經過加熱而蒸發。

為加速有機物分解，加入硫酸鹽類提高沸點、加熱溫度



分解過程和終點的判斷：

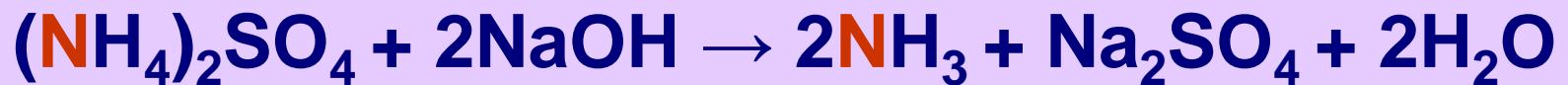
分解管中液體的變化：



達此狀態，再分解 0.5 ~ 1 小時即可



2. 蒸餾

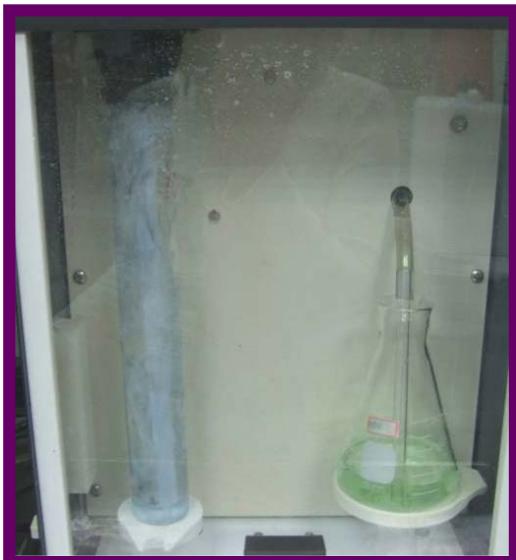


經過分解後，樣品中的硫酸銨鹽
加水溶解，再與鹼作用產生氨氣



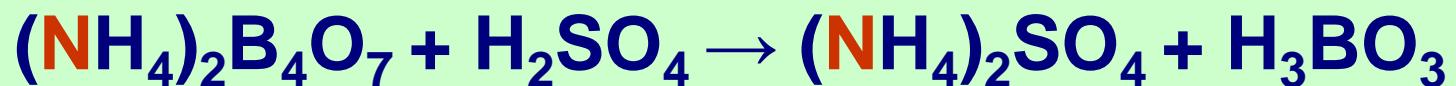
硼酸

氨氣經由蒸餾收集至定量的標準硼酸溶液





3. 滴定

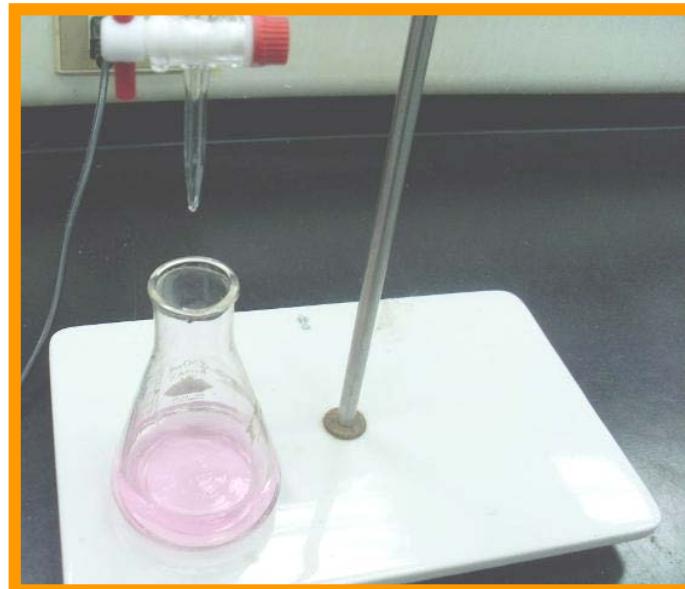


硼酸銨鹽

標準酸

硼酸

利用硫酸標準溶液直接滴定所產生的硼酸銨鹽。



材料

- 0.5 g 樣品(秤藥紙包好)
- 觸媒 5 g ($K_2SO_4:CuSO_4 \cdot H_2O = 9:1$)
- 濃硫酸
- 35% 氢氧化鈉
- 4% 硼酸
- 混合指示劑(紫紅色)
甲基紅：亞甲基藍 = 2 : 1
- 0.1N 硫酸溶液

儀器介紹

流程：分解 → 蒸餾 → 滴定

酸氣中和瓶
(35%NaOH)

排水閥



分解爐

蒸餾裝置



分解管

收集瓶



抽氣蓋

實驗步驟

粗蛋白實驗
專用分解管

1. 秤取樣品約 0.5 g~5g (視樣品而定) 置於分解管中。

樣品(顆粒大小<1mm)預先包入秤藥紙中並烘乾過夜

2. 加觸媒 5 g 於分解管。
(視藥品而定：一顆為 3 g or 5 g)



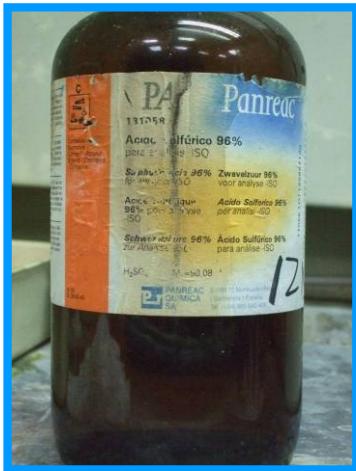
秤藥紙一併放入
(可被分解)



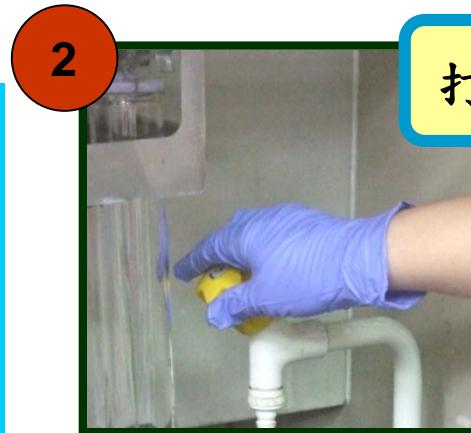
3. 打開抽風櫃電源。



4. 加 15 ml 濃硫酸於分解管中。



5. 將分解管置於蛋白分解爐中加熱 ($380 \sim 400^\circ\text{C}$) 蓋上抽氣蓋。



(將抽風櫃門拉下)

要留空隙

等待分解……

6. 分解至淡色澄清時，關閉分解爐靜待分解管冷卻(1-2hr)。



在抽風櫃中



如果沒有分解完全會呈現黑色
要再繼續分解

7. 加入70 ml蒸餾水。



在抽風櫃中

分解完之後，將抽氣蓋置於架子上，使硫酸滴下

實驗全部完成後請清洗乾淨!!



清洗乾淨



準備事項：

4% 20 ml 硼酸，
加入2滴指示劑。

無色→紫色



將滴定管架好，
管中裝滿 0.1N 標準酸。



蒸餾器面板介紹



設定鹼量與蒸餾時間

按住



打開電源



,



仍然按住不放，

按



按 N 次即設定 $N \times 10 \text{ ml}$ 鹼量。

按

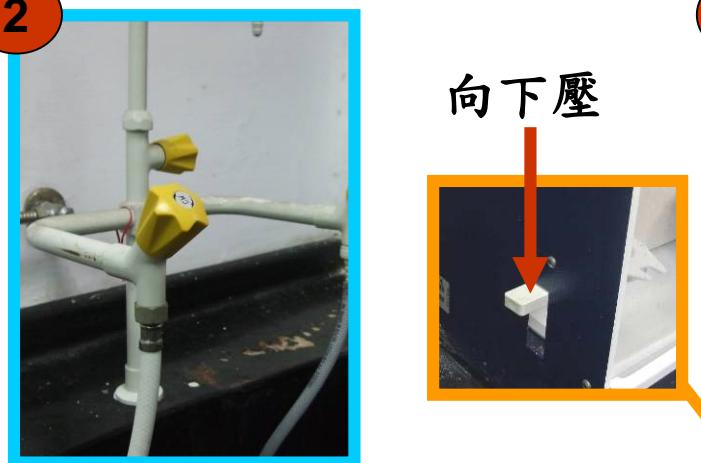


按 N 次即設定蒸餾 N 分鐘。

放開後，即完成設定。

暖機及準備事項：

打開水龍頭。



將清洗用的分解管與
接收瓶裝至儀器上。

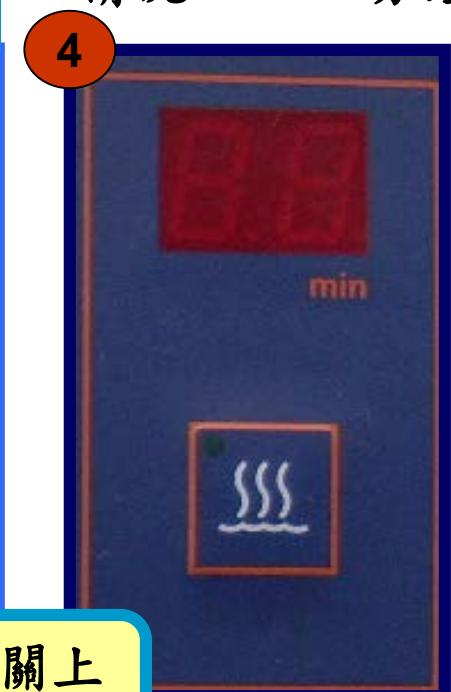


請旋緊



事先將 30 % ~ 40 %
之 NaOH 添加至蒸餾
器前的白色桶子中。
(務必使用漏斗)

設定蒸餾時間：
清洗 10~15 分鐘



樣品管與接收瓶上機...

加 80 ml 35% NaOH，
並蒸餾 5~7 分鐘。

設定完，按



即開始蒸餾。

如果接收液沒有呈現綠色
表示加入的 NaOH 沒有過量
需再添加並再次蒸餾



會由粉紅色
變成淡綠色



開始蒸餾後便
會有氣泡產生

記得要關上
護目片歐!

蒸餾器注意事項

氫氧化鈉濃度不足或加的量不夠導致硼酸吸收液無法變成綠色

- 裝氫氧化鈉的白色桶子之液面必須保持一定高度，管子才吸得到氫氧化鈉。
- 每次使用前
 1. 確認加入之氫氧化鈉是否與設定相符。只按氫氧化鈉的按鈕，若發現體積小於設定，調整桶內管子的位置確保其在液面下，不會吸到空氣。
 2. 確認管路中是否有氣泡，由按壓氫氧化鈉的按鍵隨同氫氧化鈉一起排出。
- 若出現機器設異常，請拔掉插座，等待一會。如仍無法改善，請聯絡吳技士。

蒸餾完成，取下接收瓶進行滴定。

分解管中液體冷卻後，倒入水槽。

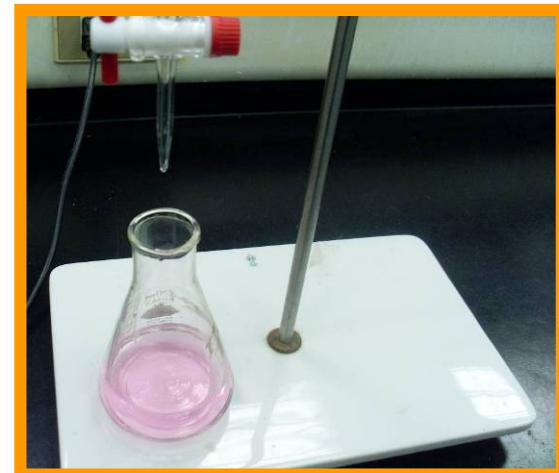
如下一管是相同樣品，可不必清洗。如果是不同樣品，請依照暖機步驟清洗 5~7 分鐘。

以 0.1 N 硫酸滴定至淡粉紅色。

記錄滴定量。

樣品全數蒸餾完，再清洗一次儀器內部的通路後，關掉電源，關閉水龍頭。

水要倒掉!!



使用完後記得要
清理乾淨!!

計算公式

$$\text{粗蛋白}(\%) = \frac{(b-a) \times N \times 0.014^* \times 6.25^{**} \times 100 \%}{S}$$

a : 對照組(空白組)的滴定數 (ml)

b : 樣品的滴定數 (ml)

N : 標準酸的當量濃度 (0.1)

S : 樣品的重量(克)

* : 氨的毫當量數 (氮當量數= 14)

** : 氮係數

注意事項

- 操作全程請務必著實驗衣，戴手套與活性碳口罩。
- NaOH配製要小心，於抽風櫃中進行，使用塑膠容器盛裝。
- 使用前更換酸氣中和瓶溶液(35% NaOH) ，操作中應隨時注意是否有氣泡產生或氣泡太小。
- 放入一粒催化劑 (有致癌性！請用鑷子拿取)
- 添加濃硫酸在抽風櫃中進行。
- 分解管洗淨烘乾，要注意每支分解管要一樣高。
 1. 防止氣體散失，影響數據
 2. 有毒的SO₂氣體會從上蓋孔洞流出
- 空分解管子沒加硫酸與催化劑，會燒到破掉

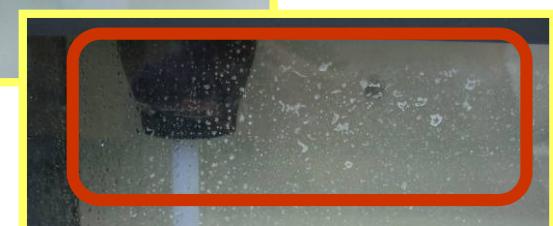
- 分解完成等待冷卻時，酸氣中和瓶水龍頭繼續開啟，以便進一步處理殘餘的水蒸氣與二氧化硫。
- 分解管冷卻後，才可以加入蒸餾水。
- 蒸餾完後的分解管很燙，操作過程中必需要戴厚手套。
- 實驗完成後機器要擦拭乾淨、並沖洗分解爐之抽氣蓋。
- 使用後，務必拔除電源線。



清潔重點：



1. 請使用左邊排水管將抽氣蓋子與抽風櫃檯面清洗乾淨。
2. 使用刷子將白色粉末清除。
3. 使用刷子將護目片擦乾淨。
4. 接水盤的水要倒掉。
5. 實驗桌整潔。



最後請檢察：

1. 抽風櫃、機器是否皆關機。
2. 水龍頭皆關緊。
3. 抽風櫃上鎖。





保養：

使用完保養：

1. 樣品全數蒸餾完，依照暖機步驟再清洗一次儀器內部通路。
2. 做好上述清潔重點。

月保養(鹼液管線)：

1. 以清水清洗鹼液桶。
2. 裝半滿清水於鹼液桶內。
3. 裝上分解管。
4. 按 鍵數次，清洗鹼液分注器及管路。清洗完後，擦拭分解管專用之橡皮塞。



旬保養(蒸氣產生器)：

1. 配製檸檬酸清洗液：100 g 檸檬酸 + 800 ml 水。
2. 將蒸氣產生器內餘水放盡後，將漏斗接至蒸氣產生器排水管。
3. 將漏斗提高至比蒸氣產生器要高的位子上，再將檸檬酸清洗液灌入蒸氣產生器內。

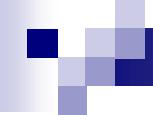
可選擇兩種方式清洗：

 - A. 浸泡整夜，讓附著物脫落。
 - B. 放一組分解管及接收瓶，並打開電源及蒸氣閥，使其產生蒸氣約 5 分鐘，再關掉電源及蒸氣閥。
4. 打開排水閥，放盡檸檬酸清洗液後，再關閉排水口，注滿清水清洗 1~2 次即可。



旬保養(緩衝區)：

1. 裝一組分解管 (內含 25 ml 清水及 25 ml 檸檬酸洗劑) 及接收瓶，蒸餾約 5 分鐘。
2. 置換一組分解管 (內含 50 ml 清水) 及接收瓶，蒸餾約 5 分鐘。
3. 重複上述步驟 3 次，以確保無檸檬酸之殘留。



Thanks for your attention

混合指示劑-mixed indicator 5

- 混合指示劑在鹼性溶液中呈綠色，在中性溶液中呈灰色，在酸性溶液中呈紅色。



分解爐設定：

溫度：380°C

無法定時，請自行計時
約 3:30 (加上升溫時間)





分解爐設定：

電源



溫度控制



溫度計

轉扭轉到 7，一個刻度為 50°C。