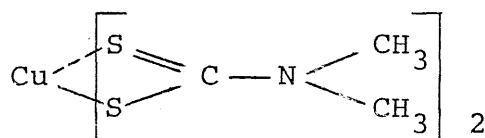


## DIMETYLAMIN-NITROGEN I FISKEEKSTRAKT, DOWDEN

Prinsipp

Når dimetylammin (DMA) reagerer med karbondisulfid i nærvær av kopperjoner, dannes et gul farget koppersalt av dimetylditiokarbaminsyren:



Fargestoffet som er uløselig i vann, ekstraheres ut med benzen, og absorpsjonen avleses ved 432 nm.

Reagenser

1. HCl, fortynnet 1:1 for pH-justering
2. HCl, 0,1 N som forlagssyre
3. MgO, brent
4. CS<sub>2</sub>, 5 % v/v i benzen
5. 20 g ammoniumacetat + 0,2 g koppersulfat (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) løst i 30 ml vann blandes med 10 g NaOH løst i 25 ml vann. Blandingen tilsettes 28 ml 25 % ammoniakk. Det tilsettes vann til et totalvolum på 100 ml.
6. Iseddik, 30 % v/v i vann
7. Standard DMA-N-løsning, 3 µg/ml. 174,7 mg DMA·HCl løses til 500 ml med vann. 5 ml løsning fortynnes videre med vann til 100 ml. Denne sluttløsningen har en konsentrasjon på 3 µg DMA-N/ml.

Apparatur

- a. Erlenmeyerkolber, 300, 500 og 750 ml
- b. pH-papir "Lyphan"
- c. Trakter + foldefiltre
- d. Wagner, destillasjonsapparat
- e. Sentrifugeglass, Sovirel, 10 (eventuelt 20 ml) med skrukapsel og teflonpakning
- f. Vannbad, 40°C
- g. Rysteapparat
- h. Sentrifuge
- i. Bunsenbrenner
- j. Avtrekksskap for arbeide med benzen og karbondisulfid
- k. Engangshansker

Utførelse

Serum. 100 g godt homogenisert fiskefarse suspenderes i 400 ml vann. pH justeres til 5,2 ved dråpevis tilsetning av HCl, 1:1, og bruk av "Lyphan"-papir for kontroll. Blandingen varmes på vannbad til 70°C, og pH justeres påny til 5,2. Temperaturen holdes på 70°C i 5 minutter. Suspensjonen avkjøles og filtreres, filtrat = serum.

100 ml filtrat fortynnes til ca. 250 ml med vann i en 750 ml destillasjonskolbe, tilsettes 0,5 g MgO, og det destilleres i 45 minutter over i en 300 ml forlagskolbe med 25 ml 0,1 N HCl. Forlaget fortynnes til 200 ml med vann, og 4 ml pipetteres over i sovirelrør. Det tilsettes 0,5 ml reagens 5 og 4 ml reagens 4. Kapselen skrues på, og rørene varmes 1 minutt på vannbad ved 40°C. Rørene rystes deretter kraftig i 2 minutter (rystemaskin). Det tilsettes 0,5 ml reagens 6 og ryste påny i 1 minutt. Etter avkjøling sentrifugeres i 10 minutter ved 2000 rpm.

Benzenfasen overføres til 1 cm kyvette, og absorpsjonen måles ved 432 nm mot blindprøve opparbeidet på samme måte.

Standardkurve. Henholdsvis 0-0,2-0,4-0,8-1,6-2,4-3,2 og 4,0 ml av standard DMA-N-løsning (7) overføres til sovirelrør. Det justeres med vann til 4 ml. Prøvene tilsettes reagenser, varmes og rystes, og absorpsjonen måles som angitt foran. Konsentrasjonene, i µg DMA-N/ml benzenfase (x-akse) tegnes av mot de respektive absorpsjonene (y-akse).

Beregning

DMA-N, mg/100g fiskeprøve =  $\frac{f_1 \cdot M_A}{f_2 \cdot W}$  (=  $M_A$  når mengde- og fortynningsforhold er som angitt i metoden).

$M_A$  = Den mengde DMA-N i µg som avleses på standardkurven og som svarer til prøvens målte absorpsjon A.

W = Initialt innveid mengde fiskeprøve, gram

$f_1$  = omregningsfaktor

$f_2$  = fortynningsfaktor

Henvisning

Dowden: Biochem. J. 32, 455, 1938.

Hjorth-Hansen, S. og Bakken, K.: Undersøkelser over analysemetoder for ammoniakk og metylaminer i fisk. Fiskeridirektoratets Skrifter, Vol. 1, Nr. 6, 1947.