

Veevoeder – Ruw eiwit

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders wordt bepaald op basis van het stikstofgehalte volgens de Kjeldahlmethode.

2 PRINCIPE

Het monster wordt ontsloten met zwavelzuur in aanwezigheid van een katalysator. De zure oplossing wordt met een oplossing van natriumhydroxide basisch gemaakt. De ammoniak wordt overgedestilleerd en opgevangen in een geschikte absorptievloeistof, afhankelijk van de gekozen bepalingstechniek. De bepaling van het ammoniumgehalte kan uitgevoerd worden:

- door terugtitratie met een standaardoplossing van natriumhydroxide
- volgens NBN EN ISO 11732:2005 Water quality -- Determination of ammonium nitrogen -- Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
- volgens ISO 7150-1:1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1: Manual spectrometric method
- volgens ISO 15923-1:2013 Water quality -- Determination of selected parameters by discrete analysis systems - Part 1: Ammonium, nitrate, nitrite, chloride, orthophosphate, sulfate and silicate with photometric detection ~~NEN6604:2007 Water -- Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie~~

Deze procedure beschrijft de titrimetrische methode.

3 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 2/01.

De analyses worden uitgevoerd op het verfijnde monster (< 1 mm) zoals beschreven in BAM/deel 2/02.

4 REAGENTIA

- 4.1 Kaliumsulfaat, K_2SO_4 .
- 4.2 Katalysator
koper(II)oxide (CuO) of koper(II)sulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Ook andere voor deze bepaling geschikte commercieel beschikbare katalysatoren zijn toegestaan.
- 4.3 Zinkkorrels.
- 4.4 Zwavelzuur $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.
- 4.5 Zwavelzuur $c(H_2SO_4) = 0,5$ mol/l.
- 4.6 Zwavelzuur $c(H_2SO_4) = 0,1$ mol/l.
- 4.7 Methylrood-indicator:
300 mg methylrood oplossen in 100 ml ethanol, $\sigma = 95-96$ % (v/v).
- 4.8 Natriumhydroxide-oplossing (m/v: 40%)

- (technische kwaliteit is voldoende), $\beta = 40 \text{ g}/100 \text{ ml}$ (m/v: 40 %).
- 4.9 Natriumhydroxide-oplossing, $c = 0,25 \text{ mol/l}$.
 - 4.10 Natriumhydroxide-oplossing, $c = 0,1 \text{ mol/l}$.
 - 4.11 Puimsteenkorrels, met zoutzuur gewassen en gegloeid.
 - 4.12 Acetanilide (sm.p. = $114 \text{ }^\circ\text{C}$; N = 10,36 %).
 - 4.13 Saccharose (vrij van stikstof).

5 APPARATUUR

Apparatuur, geschikt voor het uitvoeren van ontsluiting, destillatie en titratie volgens volgens de Kjeldahlmethode.

6 WERKWIJZE

6.1 ONTSLUITING

Weeg af van het monster 1 g op 0,001 g nauwkeurig en breng dat in de recipiënt van de ontsluitingsapparatuur. Voeg daaraan toe 15 g kaliumsulfaat (3.1), een geschikte hoeveelheid katalysator (3.2) (0,3 tot 0,4 g koper(II)oxide of 0,9 tot 1,2 g koper(II)sulfaatpentahydraat), 25 ml zwavelzuur (3.4) en een paar puimsteenkorrels (3.11); meng het geheel. Verwarm de recipiënt eerst zacht onder af en toe zwenken, indien nodig, totdat de massa is verkoold en het schuim is verdwenen; verhit vervolgens krachtiger totdat de vloeistof regelmatig kookt. De verwarming is voldoende wanneer het kokende zuur tegen de wand van de recipiënt condenseert. Zorg ervoor dat de wand niet oververhit raakt en dat er geen organische stof aan gaat vastzitten. Kook nog twee uur nadat de oplossing helder en lichtgroen geworden is, laat afkoelen.

6.2 DESTILLATIE

Voeg genoeg water toe om de sulfaten volledig op te lossen. Laat afkoelen, voeg enkele zinkkorrels (3.3) toe.

Breng in de opvangkolf van de destillatieapparatuur een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid van 25 ml zwavelzuur (3.5 of 3.6), afhankelijk van het verwachte stikstofgehalte. Voeg enkele druppels methylrood (3.7) toe.

Verbind de ontsluitingsrecipiënt met de koeler van het destillatieapparaat en zorg ervoor dat het uiteinde van de koelbuis zich ten minste 1 cm onder het vloeistofoppervlak in de opvangkolf bevindt (zie opmerking 8). Giet langzaam 100 ml natriumhydroxideoplossing (3.8) in de ontsluitingsrecipiënt, zonder ammoniakverlies (zie opmerking 8).

Verwarm de recipiënt totdat alle ammoniak overgedestilleerd is.

6.3 TITRATIE

Titreer de overmaat zwavelzuur in de opvangkolf terug met natriumhydroxide-oplossing (3.9 of 3.10) afhankelijk van de concentratie van het gebruikte zwavelzuur, totdat het eindpunt is bereikt.

6.4 BLANCOPROEF

Voer een blancoproef (ontsluiting, destillatie en titratie) uit met **bv.** 1 g saccharose (3.13) in plaats van het monster.

7 BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Bereken het gehalte aan ruw eiwit in % op vers monster met behulp van de volgende formule:

$$\frac{(V_0 - V_1) \times c \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

waarin:

V_0 = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt in de blancoproef

V_1 = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt bij de titratie van het monster

c = concentratie (mol/l) natriumhydroxide (3.9 of 3.10)

m = massa (in g) van het monster.

VALIDATIE VAN DE METHODE

7.1 HERHAALBAARHEID

~~Het verschil tussen de resultaten van twee parallelle, op hetzelfde monster verrichte bepalingen mag niet meer bedragen dan:~~

~~a. 0,2 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van minder dan 20 %;~~

~~b. 1,0 % relatief ten opzichte van de hoogste waarde voor ruweiwitgehalten van 20 % tot 40 %;~~

~~c. 0,4 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van meer dan 40 %.~~

7.2 NAUWKEURIGHEID

~~Voer de bepaling (ontsluiting, destillatie en analyse) uit op 1,5 tot 2,0 g acetanilide (3.12) in aanwezigheid van 1 g saccharose (3.13); 1 g acetanilide verbruikt 14,80 ml zwavelzuur (3.5).~~

~~Er moet ten minste 99 % teruggevonden worden.~~

OPMERKINGEN

~~De apparatuur kan tot het manuele, halfautomatische of automatische type behoren. Indien de ontsluitingsvloeistof tussen ontsluiting en destillatie overgebracht moet worden, mag er geen verlies optreden. Indien de recipiënt van de destillatieapparatuur niet voorzien is van een druppeltrechter, moet de natriumhydroxide oplossing langzaam langs de wand toegevoegd worden, onmiddellijk voordat de recipiënt met de koeler wordt verbonden.~~

~~Herhaal de bepaling met een grotere hoeveelheid zwavelzuur (3.4) dan hoger vermeld, wanneer het materiaal tijdens het ontsluiten vast wordt.~~

~~Bij monsters met een laag stikstofgehalte kan het volume zwavelzuur (3.6) dat in de opvangkolf wordt gebracht zo nodig worden verminderd tot 10 of 15 ml en met water tot 25 ml worden aangevuld.~~

8 REFERENTIE

- ISO 5983-1 Animal feeding stuffs – Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content – Part 1: Kjeldahl method.
- NBN EN ISO 11732:2005 Water quality -- Determination of ammonium nitrogen -- Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
- ISO 7150-1:1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1: Manual spectrometric method
- ISO 15923-1:2013 Water quality -- Determination of selected parameters by discrete analysis systems - Part 1: Ammonium, nitrate, nitrite, chloride, orthophosphate, sulfate and silicate with photometric detection
- NEN 6604:2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie