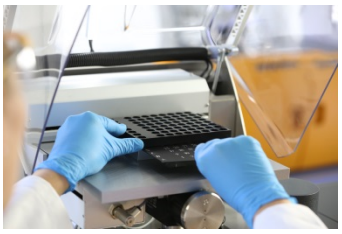
Gerhardt Analytical Systems

Fallstudie: Dumas-Stickstoffbestimmung

Sind Makro-Einwaagen bei Makro-Kosten noch zeitgemäß?

Von Dr. Werner Küppers, Königswinter, Deutschland



Sonderdruck 2015

Veröffentlicht in “Mühle + Mischfutter” · 152. Jahrgang · Heft 10 · 21. Mai 2015, Seiten 302-305

Die Frage nach Schnelligkeit und Kosteneffizienz erscheint im Licht der Frage nach Ressourcenschonung mehr denn je relevant. Das Stickstoffanalysengerät DUMATHERM® der C. Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, das nach der Dumas-Methode arbeitet, zeigt, dass beide Anforderungen keine unüberbrückbaren Gegensätze mehr sein müssen. Verbrennungskatalysatoren ohne Chrombestandteile, ungiftige Absorbentien für Wasser und CO_2 sowie patentierte, chemikalienfreie Lösungen zur Abtrennung von Kohlendioxid aus dem Analysengasstrom zeigen dies eindrucksvoll. Sind dann noch kleine Einwaagen anstelle von Gramm-Einwaagen aufgrund von intelligenter Analysentechnik möglich, erscheint die Verbrennungsanalyse in neuem Licht, da sie eine echte Alternative zu Sekundärmethoden sowie Kjeldahl-Referenzmethoden geworden ist.

Dieser Beitrag versucht zu ergründen, ob Gramm-Einwaagen noch zeitgemäß sind oder ob eine intelligente Detektionstechnik gepaart mit einer effizienten Gerätekonstruktion diese nicht überflüssig machen. Als Beispiele wurden als Probenmatrices Mehl und Soja betrachtet.

1. Allgemeines Prinzip von Verbrennungsgeräten

Zur Stickstoff-/Proteinbestimmung werden Proben durch die Verbrennung bei hohen Temperaturen und in Anwesenheit von Katalysatoren in ihre Oxide überführt. Das entstehende Stickoxid (NO_2) wird mittels Kupfer zu elementarem Stickstoff umgewandelt. Die Nebenprodukte Wasser und Kohlendioxid werden vollständig abgetrennt, bevor der verbleibende Stickstoff mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor analysiert wird (siehe Gleichung). Aus dem Stickstoffgehalt wird durch den literaturbekannten Proteinfaktor der Proteingehalt rechnerisch aus Proteingehalt = Stickstoffgehalt x Proteinfaktor ermittelt.

$$(C_xH_yN_2)_{(s/l)} + O_2\,(g) \rightarrow x\,CO_2\,(g) + y\,H_2O\,(g) + z\,NO_{2\,(g)}$$

Nach diesem Prinzip arbeitende Analysengeräte folgen nationalen wie internationalen Normen

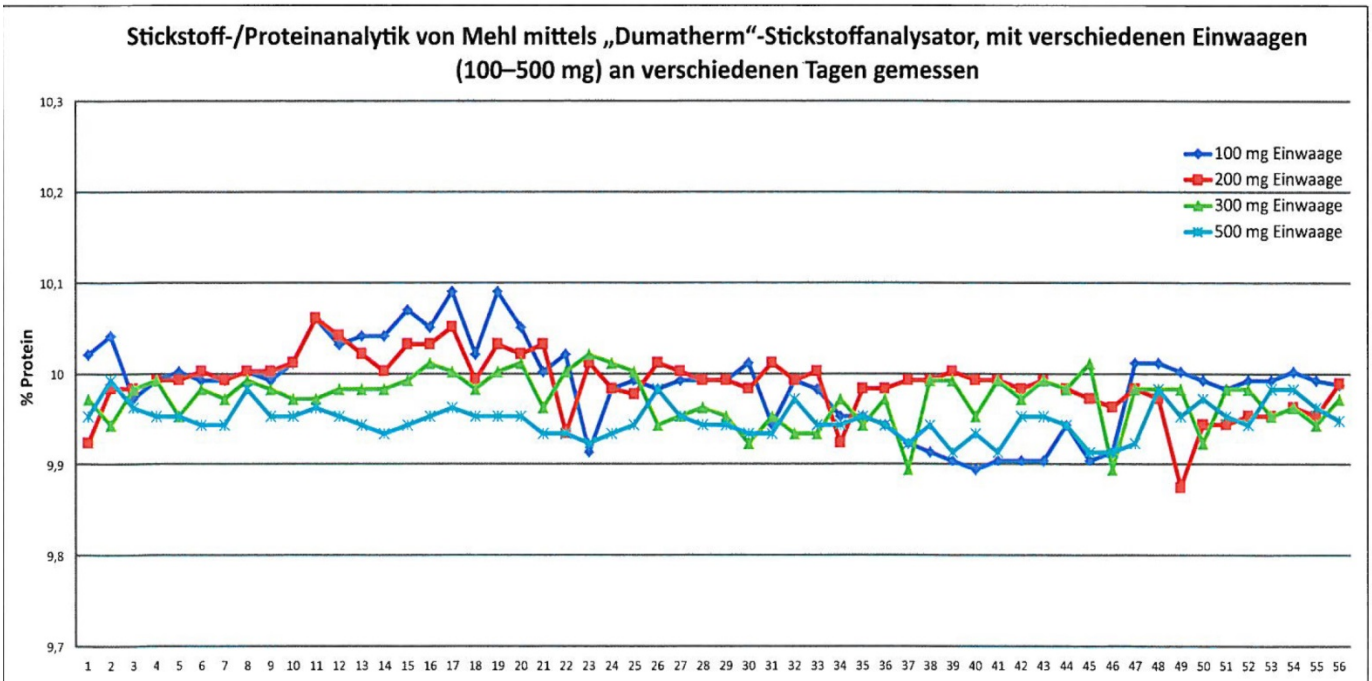


Abb. 1: Proteinwerte von Mehl (Typ 405), gemessen an 56 verschiedenen Tagen mit dem „Dumatherm". Aufgetragen sind der Tag und der Proteingehalt. Der Proteinfaktor ist 6,25.

und Analysenvorschriften und erfüllen die darin geforderten Analysenqualitäten. Einsatzmöglichkeiten von Dumas-Geräten sind in vielen Bereichen der Mehlproduktion und -verarbeitung gegeben: selbstverständlich in der Referenzanalytik für den Parameter Stickstoff/ Protein, andererseits aber auch in der direkten Produktionskontrolle mit der Referenzmethode Dumas. Hier ist die Schnelligkeit der Dumas-Methode von drei bis vier Minuten pro Analyse von Vorteil.

Die Probenvorbereitung spielt, wie bei allen Analysensystemen, auch für Dumas-Geräte eine entscheidende Rolle. So wird in vielen deutschen DIN-Normen, zum Beispiel in der DIN EN ISO 166341, eine Einwaage von mindestens 100 mg gefordert. Die Gewichtsmessung sollte zusätzlich mit einer Analysenwaage mit 0,0001 g Ablesegenauigkeit erfolgen.

Die nachfolgenden Untersuchungen sollen zeigen, dass herkömmliche Getreideproben mit moderaten Einwaagen problemlos mit exzellenten Wiederholbarkeiten gemessen werden können. Damit können Forderungen nach Gramm-Einwaagen getrost ad acta gelegt werden und der Fokus kann auf Hochdurchsatz, Schnelligkeit und Ressourcenschonung gelegt werden.

2. Wiederholbarkeit im Proteingehalt bei Mehl

Misst man über einen langen Zeitraum (56 Messtage in insgesamt elf Wochen mit über 200 Messungen) in der täglichen Routine immer eine gleiche Mehlprobe (Mehl, Typ 405, ohne weitere Probenvorbereitung) in verschiedenen Einwaagen (100, 200, 300 und 500 mg), so erhält man die in Abb. 1 dargestellten Ergebnisse als Mittelwerte aus den jeweils Vierfach-Bestimmungen.

Aus Abb. 1 sind folgende Schlussfolgerungen möglich:

- Die Schwankungen in den Messwerten sind erwartungsgemäß bei kleinen Einwaagen (100, 200 mg) größer als bei großen (300, 500 mg).
- Der Mittelwert aus allen Messungen bei den verschiedenen Einwaagen ist nahezu gleich, ein Matrixeffekt ist daher nicht erkennbar.

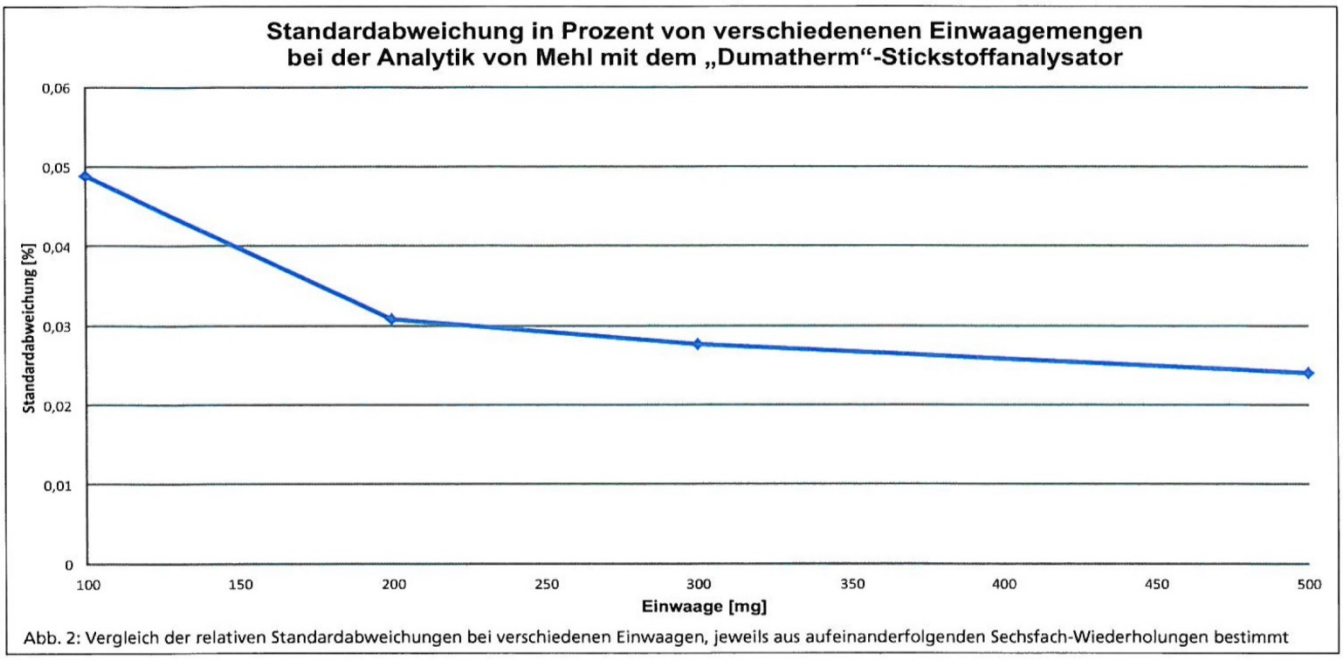


Abb. 2: Vergleich der relativen Standardabweichungen bei verschiedenen Einwaagen, jeweils aus aufeinanderfolgenden Sechsfach-Wiederholungen bestimmt

Trägt man die Standardabweichung in Prozent gegen die Einwaage auf, so erhält man einen eindrucksvollen Nachweis für die Präzision von modernen Analysengeräten (Abb. 2).

Fazit: Ab 200 mg Einwaage aufwärts verändert sich die relative Standardabweichung kaum noch nennenswert und es ist eine gleichmäßig gute Standardabweichung reproduzierbar gewährleistet. Von daher sind größere Einwaagen - nicht nur aufgrund von Kostengesichtspunkten - zu vernachlässigen. Auch sollten Wechselwirkungen mit der Laborluft und der Probenmatrix bei offenen Einwaagegefäßen berücksichtigt werden.

Rein optisch zeigt sich die Menge an Einwaage bei 500 mg anhand des folgenden Bildes (Abb. 3). Als Größenvergleich ist eine 1-Cent-Münze dargestellt.

Abb. 3.: 200 mg Mehl im Vergleich zu 500 mg Mehl und einem 1-Cent-Stück

Verbrennungsgeräte arbeiten üblicherweise mit Ascheeinsätzen (Abb. 4) zur Abtrennung der bei der Verbrennung unweigerlich entstehenden Asche. Diese sind gasdurchlässige Keramik-Fritten, die im Verbrennungsreaktor gleich unterhalb des Probengebers eingebaut sind.

Um auch hier wieder hohe Kosten aufgrund der hohen Einwaage und des hohen Aschegehaltes zu vermeiden, sind möglichst geringe Einwaagen von Vorteil. Auch die bei der Verbrennung bei offenem Einwaageschiffchen aufgewirbelte Probenmatrix erscheint hier von Nachteil. All dies ist bei geschlossener Folie ausgeschlossen, zumal die bei der Verbrennung der Folie freigesetzte Energie noch für die Reduktion der Verbrennungstemperatur eingesetzt werden kann. So können moderne Verbrennungsgeräte bei 950 °C anstelle von 1 000 °C und mehr betrieben werden.

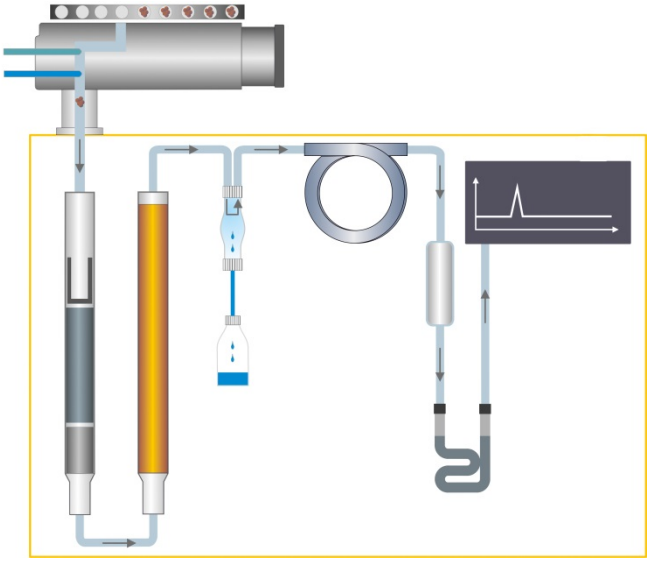


Abb. 4.: Analysenprinzip eines Verbrennungsgerätes nach Dumas mit Autosampler, Verbrennungsreaktor mit Ascheeinsatz sowie Reduktionsreaktor gefüllt mit Kupfer und Systemen zur Wasser- und Kohlendioxidabtrennung. Abschließend Wärmeleitfähigkeitsdetektor und externer PC zur Datenauswertung

3. Einzelbetrachtungen

Zur weiteren Präzisierung sollen die Ergebnisse aus den verschiedenen Messungen noch einmal genauer betrachtet werden. Wird das Mehl als Mehrfachbestimmung an einem Tag mit gleichbleibender Einwaage in Serie gemessen, erzielt man eine exzellente Standardabweichung von 0,01 % absolut (Abb. 5).

Dumatherm Nitrogen / Protein Analyser

Serial Number : 159 Submitter :
Software Version: DUMATHERM MANAGER V4.11 Operator : Serviceman

Date	Time	Sample name	Weight [mg]	Protein factor	Nitrogen Peak Area [mV*s]	N Weidht [mg]	Nitrogen [%]	Protein [%]
04.09.2013	13:19:20	Mehl	200,781	5,70	1,333E+04	3,517	1,752	9,98
04.09.2013	13:23:42	Mehl	200,160	5,70	1,328E+04	3,505	1,751	9,98
04.09.2013	13:28:04	Mehl	200,539	5,70	1,332E+04	3,516	1,753	9,99
04.09.2013	13:32:21	Mehl	199,964	5,70	1,329E+04	3,507	1,754	10,00
04.09.2013	13:36:39	Mehl	200,368	5,70	1,332E+04	3,516	1,755	10,00
04.09.2013	13:40:59	Mehl	200,342	5,70	1,331E+04	3,512	1,753	9,99
04.09.2013	13:45:19	Mehl	200,599	5,70	1,333E+04	3,518	1,754	10,00

Average	1,753	9,99
Standard Deviation	0,001	0,01
RSD [%]	0,070	0,09

Calibration number and standard name : for N 3385 August 2013 (L-Q-Q) EDTA
Method : B 1,2
Series Name : Aug 13

Temperatures:		Flow Rates:		Times:	
Combustion Reactor	979 °C	He I	193,0 sccm	Sample Delay	7 s
Reduction Reactor	650 °C	He II	199,0 sccm	Sample Stop	11 s
Degassing Oven	299 °C	O_2	300,0 sccm	Run Time	Auto

Abb. 5: Messergebnisse mit 200 mg Weizenmehl, Typ 405

3.1 Einwaage von 200 mg Weizenmehl, Typ 405

Die Standardabweichung ist in der Mehrfachbestimmung kleiner als 0,01 % (Abb. 5). Einwaagen von 200 mg sind offenbar ausreichend, um präzise und vor allem repräsentative Ergebnisse mit Mehl der Type 405 zu erzielen.

3.2 Verschiedene Einwaagen: Beispiel Soja

Bei Futtermitteln mit großer Inhomogenität besteht zumeist das Problem, dass bei kleinen Einwaagen die Wiederholbarkeit durch die Probe schlecht ist. Zum Lösen des Problems kann man entweder die Einwaage erhöhen oder - besser - die Probe feiner vermahlen.

Ergebnisse nach Strategie 1:
Einwaage erhöhen

Tabelle 1: Mittelwerte in der Proteinbestimmung am Beispiel Soja (direkt aus der Produktion) bei unterschiedlichen Einwaagen. Mittelwert aus acht Messungen.

Einwaage [mg]	Proteinwert [%]	Standardabweichung [%]
200	45,91	0,65
300	46,56	0,32
400	46,44	0,25

Während die Mittelwerte nahezu unverändert bleiben, vermindern sich die Standardabweichungen erwartungsgemäß bei höherer Einwaage. In den Werten ist aber die Inhomogenität der Probe klar erkennbar.

Ergebnisse nach Strategie 2:
Probe feiner mahlen

Abb. 6 zeigt das Ergebnis der Vermahlung auf 0,5 mm Siebgröße (rechts). Mit dem Auge ist die Verbesserung direkt erkennbar.

Als Konsequenz sollte die Standardabweichung mit dem feineren Vermahlungsgrad besser ausfallen. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse.

Sojaprobe direkt aus der Produktion

Sojaproben, gemahlen auf 0,5 mm Siebgröße mit der Labormühle „Pulverisette 14"

Abb. 6.: Verschieden vorbereitete Sojaproben

Tabelle 2: Vergleich unterschiedlicher Vermahlungen: Produktionsvermahlung und 0,5-mm-Vermahlung. Mittelwert aus acht Messungen.

Mahlgrad	Proteinwert [%]	Standard-abweichung [%]
Produktionsvermahlung, 200 mg Einwaage	45,91	0,65
Mahlgrad 0,5 mm, 200 mg Einwaage	46,45	0,14

Eine feinere Vermahlung reduziert also erwartungsgemäß die relative Standardabweichung dramatisch. Die Mittelwerte sind aber aufgrund der durchgeführten Mehrfachbestimmungen nahezu gleich. Der Zeitaufwand und die Kosten der Mehrfachbestimmung gegenüber der feineren Vermahlung sind also abzuwägen.

Eine zum Vergleich durchgeführte Kjeldahl-Bestimmung mit Einwaagen im Gramm-Bereich ergab einen Mittelwert von 46,42% Protein. Der Methodenvergleich zeigt also identische Werte, ohne dass man eine Diskussion über abweichende Ergebnisse führen muss.

Von daher sind für inhomogene Produkte immer verschiedene Möglichkeiten der Optimierung der Messergebnisse möglich. Zur Vermeidung von tiefgehenden Diskussionen über Statistik in den Analysenergebnissen bietet sich die feinere Vermahlung aber als pragmatischste und schnellste Lösung an.

4. Fazit

DUMATHERM® ist ein hocheffizientes, präzises und schnelles Analysengerät zur Proteinbestimmung, das für die meisten Probenmatrices eine echte Alternative zu klassischen Verfahren (z. B. Kjeldahl) darstellt. Bei der Verbrennungsmethode nach Dumas wird das Probenmaterial bei hohen Temperaturen verbrannt und die entstehenden Verbrennungsgase analysiert.

Aufgrund der intelligenten Konstruktion verfügt DUMATHERM® über sehr wenige Verschleißteile, was den Wartungsaufwand auf ein Minimum reduziert. Die Bedienung und Überwachung des Gerätes erfolgt vollständig via PC mit der Steuerungssoftware „DUMATHERM® Manager" und ein Ergebnis steht nach etwa drei Minuten nach der Referenzmethode zur Verfügung.

5. Literatur

Getreide, Hülsenfrüchte, gemahlene Getreideerzeugnisse, Ölsamen, Ölsamenrückstände und Futtermittel - Bestimmung des Gehaltes an Gesamtstickstoff mit dem Verbrennungsverfahren nach Dumas und Berechnung des Gehaltes an Rohprotein. - ISO/DIS 16634:2006; Deutsche Fassung PrEN 16634:2006; DIN EN ISO 16634 - Entwurf

C. Gerhardt – Quality made in Germany

STANDARDANALYSEN AUTOMATISIEREN

Vollautomatische Labor-Analysensysteme von C. Gerhardt sind hochentwickelte Spezialgeräte. Sie automatisieren wiederkehrende Analysenprozesse entsprechend nationaler und internationaler Standards und Normen. Sie liefern kontinuierlich präzise und reproduzierbare Analysenergebnisse schnell, kostengünstig, ressourcenschonend und hocheffizient.

+ **HYDROLYSE VOLLAUTOMATISCH**
  HYDROTHERM – automatisches Säure-Hydrolyse-System für die Fettbestimmung nach Weibull-Stoldt. Zusammen mit SOXTHERM® ist HYDROTHERM eine ideale Systemlösung zur Gesamtfettbestimmung.

+ **Fettextraktion vollautomatisch**
  SOXTHERM® – automatisches Schnell-Extraktionssystem zur Fettbestimmung.

+ **Stickstoffanalyse vollautomatisch**
  DUMATHERM® – Stickstoff-/Proteinbestimmung von festen und flüssigen Proben nach der Verbrennungsmethode von Dumas. Für fast alle Probenmatrices eine schnelle und komfortable Alternative zur klassischen Kjeldahl-Methode.

+ **Rohfaserextraktion vollautomatisch**
  FIBRETHERM® – vollautomatische Abarbeitung der Koch- und Filtrationsvorgänge bei der Rohfaser-, ADF- und NDF-Bestimmung.

+ **Wasserdampf-Destillation vollautomatisch**
  VAPODEST® – Schnell-Destilliersystem zur Stickstoff- und Proteinbestimmung nach Kjeldahl und Wasserdampfdestillation als Probenvorbereitung für weitere Analysen.

Gerhardt Analytical Systems

C. Gerhardt GmbH & Co. KG
Cäsariusstraße 97, 53639 Königswinter, GERMANY
Tel.: +49 (0) 2223 2999-0, www.gerhardt.de