

FALLSTUDIE

Wie mit einer einfachen Kjeldahlmethode die strengen Ergebnisanforderungen der ISO 8968-1 für Protein deutlich übertroffen werden können



Kurzdarstellung

Mit dem Ziel die Wiederholpräzision der Proteingehalte nach Kjeldahl in Milch gemäß offiziellen Normen wie AOAC 991.20 oder ISO 8968 – 1 zu optimieren, wurden die Aufschlussparameter variiert um die höchstmögliche Wiederholpräzision (signifikant besser als 0,038% Protein) und Wiederfindung zu erhalten.

Das Optimum wurde bei 2 Stunden Aufschlusszeit bei 390°C Blocktemperatur eines KJELDATHERM® KBL20s Aufschlussblockes gefunden. Die Wiederholpräzision zwischen zwei gleichen Proben war signifikant besser als 0,038% Protein, diese Wiederholpräzision konnte sogar in einer Serie von 20(!) gleichen Proben eingehalten werden.

Die einzige Abweichung zu den aufgeführten Normen war der Zustand der Proben nach dem Aufschluss. Auch wenn die Normen nach dem Aufschluss eine klare Lösung beschreiben, können nach dem Aufschluss der hier beschriebenen Methode die Proben teilweise noch dunkel sein. Jedoch rechtfertigen die guten Resultate aus unserer Sicht diese leichte Abweichung.

Die Wiederfindung wurde mit L-Tryptophan (AppliChem, min. 99%) überprüft, die durchschnittliche Wiederfindung lag bei 99,494% mit der hier aufgeführten Methode. Somit war die Wiederfindung deutlich höher als die in den Normen geforderten min. 98%.

Methodendaten und Ergebnisse

Probe: Milch
Eingabenummer: 3590,3667
Datum: 20.09.-19.10.2012
Probentyp: Milch

Analytische Details

Wasser: Demineralisiert oder destilliert
Schwefelsäure H₂SO₄, min. 98%
Katalysator: Kjeltabs Cx analog Kjelcat Cu
Natronlauge: NaOH, 32%
Borsäure: H₃BO₃, 2%

Standardlösung:

Salzsäure HCl c= 0.1 mol/l oder
Schwefelsäure H₂SO₄ c= 0.05 mol/l

Alle angewandten Chemikalien müssen p.a. Qualität aufweisen

Apparate

Analytische Waage (0.0001 g)
Kjeldahl Aufschlussblock KJELDATHERM®
KBL20s, TURBOSOG-Scrubber
VAPODEST® Destilliersystem VAPODEST® 50 s c

Probenvorbereitung

Die Milch wird in einem 40°C warmen Wasserbad auf 38°C erwärmt und verrührt. Danach auf Raumtemperatur abkühlen lassen. Das Probengewicht wird durch Differenzwägung mit einer Einwegspritze bestimmt. Die Schwefelsäure wird über die Wandungen des Aufschlussglases zugegeben um Probenreste an den Wandungen herunter zu spülen.

Probe: ~4g
Katalysator: 2 Kjeltabs Typ CX oder analog 2 Kjelcat Cu
H₂SO₄: 20ml min. 98%



Parameter KJELDATHERM® KBL 20s:

Zeit [min]	Temperatur [°C]	Bemerkungen
	390	Die Proben werden in einen vorgeheizten Block gegeben
120	390	Nach 2 Stunden wird die Probe und Analyse runter gekühlt

Besonders zu Beginn des Aufschlusses können die Proben schäumen, der Schaum sollte jedoch 2/3 der Aufschlussglashöhe nicht übersteigen. Dabei können Probenreste an den Wandungen des Glases hängen bleiben, die jedoch während des Aufschlusses durch kondensierende Schwefelsäure wieder heruntergewaschen werden.

Die Probe sollte nach dem Aufschluss klar sein, allerdings wurde häufig noch eine leichte dunkle Färbung nach dem Aufschluss beobachtet. Dies hatte jedoch keinen negativen Effekt auf die Ergebnisse, wie die angehängten Analysendaten zeigen.

Parameter VAPODEST® 50sc:

H ₂ O Zugabe	~90 ml
NaOH Zugabe	~80 ml
Reaktionszeit	0 Sek.
Destillationszeit	240 Sek.
Dampfkraft	100%
Absaugung Probe	30 Sek.
H ₃ BO ₃	~80ml
Absaugung Glaskolben	30 Sek.
Titration	C _{eq} = 0,1

Methode	Position Serie	Datum	Probe	Einwaage (g)	Blindwert[ml]	Verbrauch [ml]	N [%]	P [%]	Duplikatbestimmung	
Milch	1	#####	3590	3,9856	0,1563	14,9352	0,5194	3,3137		
Milch	2	#####	3590	4,0618	0,1563	15,2158	0,5193	3,3133	0,0004	
Milch	3	#####	3590	3,9331	0,1563	14,7559	0,5199	3,3172		-0,0039
Milch	4	#####	3590	3,7237	0,1563	13,9711	0,5197	3,3154	0,0018	
Milch	5	#####	3590	3,8159	0,1563	14,2849	0,5186	3,3088		0,0066
Milch	6	#####	3590	3,9434	0,1563	14,8061	0,5204	3,3199	-0,0111	
Milch	7	#####	3590	4,2094	0,1563	15,7451	0,5187	3,3095		0,0104
Milch	8	#####	3590	4,0130	0,1563	15,0824	0,5210	3,3239	-0,0144	
Milch	9	#####	3590	3,7047	0,1563	13,8856	0,5191	3,3118		0,0121
Milch	10	#####	3590	4,1220	0,1563	15,4467	0,5196	3,3149	-0,0032	
Milch	11	#####	3590	4,2383	0,1563	15,9304	0,5213	3,3260		-0,0110
Milch	12	#####	3590	3,8869	0,1563	14,6354	0,5218	3,3289	-0,0030	
Milch	13	#####	3590	4,0947	0,1563	15,3363	0,5193	3,3129		0,0160
Milch	14	#####	3590	4,0010	0,1563	15,0150	0,5202	3,3188	-0,0058	
Milch	15	#####	3590	3,9217	0,1563	14,6804	0,5188	3,3097		0,0091
Milch	16	#####	3590	3,8691	0,1563	14,5212	0,5200	3,3179	-0,0082	
Milch	17	#####	3590	4,0271	0,1563	15,0520	0,5181	3,3055		0,0124
Milch	18	#####	3590	4,1710	0,1563	15,6061	0,5188	3,3102	-0,0047	
Milch	19	#####	3590	4,1738	0,1563	15,6212	0,5190	3,3112		-0,0010
Milch	20	#####	3590	4,2412	0,1563	15,8801	0,5193	3,3131	-0,0019	
						Maximalwert	0,5218	3,3289		
						Durchschnittswert	0,5196	3,3151		
						Minimalwert	0,5181	3,3055		
						Schwankungsbreite	0,0037	0,0235		



Methode	Position	Serie	Datum	Probe	Einwaage e [g]	Blindwert[mL]	Verbrauch [mL]	N [%]	P [%]	Duplikatbestimmung
Milch	1		#####	3590	4,1874	0,1560	15,5790	0,5159	3,2914	
Milch	2		#####	3590	5,3487	0,1560	19,9050	0,5172	3,2996	-0,0082
Milch	3		#####	3590	4,2927	0,1560	16,0820	0,5197	3,3154	-0,0158
Milch	4		#####	3590	4,0159	0,1560	15,0300	0,5188	3,3099	0,0056
Milch	5		#####	3590	3,7109	0,1560	13,8520	0,5170	3,2983	0,0116
Milch	6		#####	3590	4,1427	0,1560	15,4550	0,5173	3,3001	-0,0019
Milch	7		#####	3590	3,9277	0,1560	14,6950	0,5185	3,3080	-0,0078
Milch	8		#####	3590	3,9669	0,1560	14,8390	0,5184	3,3076	0,0004
Milch	9		#####	3590	3,7556	0,1560	14,0450	0,5180	3,3049	0,0026
Milch	10		#####	3590	3,8642	0,1560	14,4520	0,5182	3,3060	-0,0011
Milch	11		#####	3590	4,2394	0,1560	15,9070	0,5204	3,3201	-0,0142
Milch	12		#####	3590	3,6609	0,1560	13,7220	0,5190	3,3114	0,0087
Milch	13		#####	3590	3,8367	0,1560	14,3120	0,5168	3,2972	0,0142
Milch	14		#####	3590	3,9995	0,1560	14,9060	0,5166	3,2958	0,0014
Milch	15		#####	3590	3,9099	0,1560	14,6550	0,5194	3,3139	-0,0182
Milch	16		#####	3590	3,8849	0,1560	14,5140	0,5177	3,3027	0,0113
Milch	17		#####	3590	4,1005	0,1560	15,2740	0,5164	3,2946	0,0080
Milch	18		#####	3590	3,9932	0,1560	14,9290	0,5182	3,3061	-0,0115
Milch	19		#####	3590	4,1403	0,1560	15,4080	0,5160	3,2920	0,0141
Milch	20		#####	3590	4,0088	0,1560	14,9780	0,5179	3,3041	-0,0121
							Maximalwert	0,5204	3,3201	
							Durchschnittswert	0,5179	3,3040	
							Minimalwert	0,5159	3,2914	
							Schwankungsbreite	0,0045	0,0288	

Methode	Position	Serie	Datum	Probe	Einwaage e [g]	Blindwert [mL]	Verbrauch [mL]	N [%]	P [%]	Duplikatbestimmung
Milch	1		#####	3667	4,0717	0,2023	15,2790	0,5187	3,3090	
Milch	2		#####	3667	3,7255	0,2023	14,0800	0,5218	3,3289	-0,0199
Milch	3		#####	3667	4,1337	0,2023	15,6018	0,5218	3,3292	-0,0003
Milch	4		#####	3667	4,1002	0,2023	15,4660	0,5214	3,3268	0,0024
Milch	5		#####	3667	3,9186	0,2023	14,7417	0,5197	3,3158	0,0110
Milch	6		#####	3667	4,1053	0,2023	15,4515	0,5203	3,3195	-0,0037
Milch	7		#####	3667	4,2131	0,2023	15,8274	0,5195	3,3143	0,0052
Milch	8		#####	3667	3,6923	0,2023	13,9341	0,5209	3,3235	-0,0092
Milch	9		#####	3667	3,8203	0,2023	14,3501	0,5187	3,3095	0,0141
Milch	10		#####	3667	3,9688	0,2023	14,8952	0,5186	3,3084	0,0011
Milch	11		#####	3667	4,0099	0,2023	15,0945	0,5202	3,3189	-0,0105
Milch	12		#####	3667	3,9603	0,2023	14,9183	0,5205	3,3207	-0,0018
Milch	13		#####	3667	4,1726	0,2023	15,6498	0,5186	3,3084	0,0123
Milch	14		#####	3667	4,1243	0,2023	15,5270	0,5205	3,3205	-0,0121
Milch	15		#####	3667	4,1194	0,2023	15,4634	0,5189	3,3107	0,0099
Milch	16		#####	3667	4,1454	0,2023	15,5674	0,5192	3,3123	-0,0017
Milch	17		#####	3667	4,1413	0,2023	15,5274	0,5183	3,3070	0,0053
Milch	18		#####	3667	3,8252	0,2023	14,4547	0,5219	3,3297	-0,0227
Milch	19		#####	3667	4,2073	0,2023	15,7720	0,5184	3,3071	0,0226
Milch	20		#####	3667	3,9366	0,2023	14,7825	0,5188	3,3098	-0,0028
							Maximalwert	0,5219	3,3297	
							Durchschnittswert	0,5198	3,3165	
							Minimalwert	0,5183	3,3070	
							Schwankungsbreite	0,0036	0,0227	



Methode	Position Serie	Datum	Probe	Einwaage [g]	Blindwert [ml]	Verbrauch [ml]	N [%]	P [%]	Duplikatbestimmung	
Milch	1	#####	3667	3,4133	0,2023	12,8085	0,5173	3,3005	0,0003	
Milch	2	#####	3667	3,6963	0,2023	13,8524	0,5173	3,3002		
Milch	3	#####	3667	3,5943	0,2023	13,5570	0,5204	3,3204	0,0257	-0,0202
Milch	4	#####	3667	3,8219	0,2023	14,2929	0,5164	3,2947		
Milch	5	#####	3667	3,6595	0,2023	13,7306	0,5178	3,3036	-0,0089	-0,0089
Milch	6	#####	3667	3,7314	0,2023	14,0334	0,5192	3,3125		
Milch	7	#####	3667	3,5626	0,2023	13,3612	0,5174	3,3008	-0,0056	0,0117
Milch	8	#####	3667	3,8268	0,2023	14,3613	0,5183	3,3065		
Milch	9	#####	3667	3,8050	0,2023	14,2601	0,5175	3,3016	-0,0062	0,0048
Milch	10	#####	3667	4,4999	0,2023	16,8589	0,5185	3,3079		
Milch	11	#####	3667	4,0541	0,2023	15,2076	0,5184	3,3076	-0,0142	0,0003
Milch	12	#####	3667	3,9354	0,2023	14,8308	0,5207	3,3218		
Milch	13	#####	3667	3,5699	0,2023	13,4644	0,5204	3,3199	0,0135	0,0019
Milch	14	#####	3667	3,9336	0,2023	14,7559	0,5182	3,3063		
Milch	15	#####	3667	3,9511	0,2023	14,8226	0,5183	3,3068	-0,0027	-0,0004
Milch	16	#####	3667	3,8191	0,2023	14,3456	0,5187	3,3095		
Milch	17	#####	3667	3,9122	0,2023	14,6109	0,5159	3,2913	-0,0173	0,0182
Milch	18	#####	3667	3,8360	0,2023	14,4045	0,5186	3,3086		
Milch	19	#####	3667	3,8617	0,2023	14,5230	0,5194	3,3140	0,0054	-0,0054
Milch	20	#####	3667	3,9812	0,2023	14,9423	0,5186	3,3086		
						Maximalwert	0,5207	3,3218		
						Durchschnittswert	0,5184	3,3071		
						Minimalwert	0,5159	3,2913		
						Schwankungsbreite	0,0048	0,0305		

Methode	Position Serie	Datum	Probe	Einwaage [g]	Blindwert [ml]	Verbrauch [ml]	N [%]	P [%]	Duplikatbestimmung	
Milch	1	19.10.2012 12:13	3667	3,7384	0,2023	14,0532	0,5190	3,3110	-0,0115	
Milch	2	19.10.2012 12:19	3667	3,9010	0,2023	14,7057	0,5208	3,3225		
Milch	3	19.10.2012 12:26	3667	3,8669	0,2023	14,5834	0,5209	3,3235	0,0048	-0,0010
Milch	4	19.10.2012 12:33	3667	3,8625	0,2023	14,5464	0,5202	3,3187		
Milch	5	19.10.2012 12:40	3667	3,9185	0,2023	14,7356	0,5195	3,3144	-0,0075	0,0043
Milch	6	19.10.2012 12:47	3667	3,7295	0,2023	14,0657	0,5207	3,3219		
Milch	7	19.10.2012 12:53	3667	4,1781	0,2023	15,7384	0,5208	3,3230	0,0016	-0,0011
Milch	8	19.10.2012 13:00	3667	4,0103	0,2023	15,1072	0,5206	3,3214		
Milch	9	19.10.2012 13:07	3667	4,0094	0,2023	15,0517	0,5188	3,3097	0,0006	0,0116
Milch	10	19.10.2012 13:14	3667	3,9677	0,2023	14,8945	0,5187	3,3091		
Milch	11	19.10.2012 13:21	3667	3,9054	0,2023	14,7275	0,5210	3,3237	-0,0018	-0,0146
Milch	12	19.10.2012 13:28	3667	4,1788	0,2023	15,7528	0,5212	3,3255		
Milch	13	19.10.2012 13:34	3667	4,1184	0,2023	15,5028	0,5204	3,3200	0,0018	0,0055
Milch	14	19.10.2012 13:59	3667	4,0040	0,2023	15,0695	0,5201	3,3182		
Milch	15	19.10.2012 14:06	3667	4,0282	0,2023	15,1327	0,5192	3,3123	-0,0009	0,0059
Milch	16	19.10.2012 14:13	3667	4,1692	0,2023	15,6593	0,5193	3,3131		
Milch	17	19.10.2012 14:20	3667	3,9925	0,2023	15,0162	0,5197	3,3158	-0,0124	-0,0027
Milch	18	19.10.2012 14:27	3667	4,1946	0,2023	15,8242	0,5217	3,3282		
Milch	19	19.10.2012 14:33	3667	3,9430	0,2023	14,9214	0,5229	3,3360	0,0107	-0,0078
Milch	20	19.10.2012 14:40	3667	4,2586	0,2023	16,0484	0,5212	3,3252		
						Maximalwert	0,5229	3,3360		
						Durchschnittswert	0,5203	3,3197		
						Minimalwert	0,5187	3,3091		
						Schwankungsbreite	0,0042	0,0268		

Überreicht durch:



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.



Auszug aus unserem Produktportfolio:

- + 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
- + ROHFASERBESTIMMUNG VOLLAUTOMATISCH**
FIBRETHERM® – vollautomatische Abarbeitung der Koch- und Filtrationsvorgänge bei der Rohfaser-, ADF- und NDF-Bestimmung
- + WASSERDAMPF-DESTILLATION VOLLAUTOMATISCH**
VAPODEST® – Schnell-Destilliersystem zur Proteinbestimmung und Wasserdampfdestillation
- + DUMATHERM® – STICKSTOFFBESTIMMUNG VOLLAUTOMATISCH**
Stickstoffbestimmung nach dem Verbrennungsprinzip von Jean Dumas



C. Gerhardt GmbH & Co. KG

Cäsariusstraße 97 • 53639 Königswinter

Tel.: +49 (0) 2223 2999-0 • www.gerhardt.de

