

Stofnaam	Ruw eiwit	
Type methode	Kjeldahl	
Te onderzoeken in	Mengvoeders; diervoedergrondstoffen en enkelvoudige diervoeders	
Minimum bepaalbaarheidsgrens	-	
Herhaalbaarheid	Bundel Onderzoekmethoden	Gemiddelde KDLL ringtesten
	2 g/kg bij < 200 g/kg 1,0 % van de hoogste waarde bij 200 - 400 g/kg 4 g/kg bij > 400 g/kg	2,5% bij < 200 g/kg 2,1% bij 200 - 400 g/kg 1,8% bij > 400 g/kg
Reproduceerbaarheid	2 x herhaalbaarheid	4,1% bij < 200 g/kg 3,6% bij 200 - 400 g/kg 2,9% bij > 400 g/kg
Categorie	A	
Titel	2. Bepaling van ruw eiwit. Richtlijn nr 93/28/EEG van de Commissie van 4 juni 1993 tot wijziging van bijlage I bij de derde Richtlijn 72/199/EEG van de Commissie betreffende de vaststelling van gemeenschappelijke analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders. Publicatieblad van de EG 22-7-1993; Nr L 179/8-10	

## BEPALING VAN RUW EIWIT

### 1. Doel en toepassingsgebied

Met deze methode is het mogelijk het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders te bepalen op basis van het stikstofgehalte, bepaald 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 afgedestilleerd en opgevangen in een bekende hoeveelheid zwavelzuur, waarvan de overmaat met een standaardoplossing natriumhydroxide wordt teruggetitreerd.

### 3. Reagentia

3.1 Kaliumsulfaat

3.2 Katalysator: koper(II)oxide (CuO) of koper(II)sulfaatpentahydraat (CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O)

3.3 Zinkkorrels

3.4 Zwavelzuur ρ<sub>20</sub> = 1,84 g/ml

3.5 Zwavelzuur c(1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 0,5 mol/l

3.6 Zwavelzuur c(1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 0,1 mol/l

3.7 Methylrood-indicator: 300 mg methylrood oplossen in 100 ml ethanol, σ = 95-96% (v/v)

3.8 Natriumhydroxide-oplossing (technische kwaliteit is voldoende), ρ = 40 g/100 ml (m/v: 40%)

3.9 Natriumhydroxide-oplossing, c = 0,25 mol/l

3.10 Natriumhydroxide-oplossing, c = 0,1 mol/l

3.11 Puimsteenkorrels, met zoutzuur gewassen en gegloeid

3.12 Acetanilide (sm.p. = 114°C; N = 10,36%)

3.13 Saccharose (vrij van stikstof)

## 4. Apparatuur

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

## 5. Werkwijze

### 5.1 *Ontsluiting*

Weeg af van het monster 1 g op 0,001 g nauwkeurig en breng dit in de recipiënt van de ontsluitingsapparatuur. Voeg hieraan 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 is; laat afkoelen.

### 5.2 *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 en 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 8.3). Giet langzaam 100 ml natriumhydroxideoplossing (3.8) in de ontsluitingsrecipiënt, zonder ammoniakverlies (zie opmerking 8.1).

Verwarm de recipiënt totdat alle ammoniak overgedestilleerd is.

### 5.3 *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.

### 5.4 *Blancoproef*

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

## 6. Berekening van de resultaten

Bereken het gehalte aan ruw eiwit 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 blanco proef

$V_1$  = 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

## 7. Validatie van de methode

### 7.1 Herhaalbaarheid

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

- 0,2% absoluut voor ruw-eiwitgehalten van minder dan 20%
- 1,0% relatief ten opzichte van de hoogste waarde voor ruweiwitgehalten van 20% tot 40%
- 0,4% absoluut voor ruw-eiwitgehalten van meer dan 40%

### 7.2 Nauwkeurigheid

Voer de bepaling (ontsluiting, destillatie en titratie) 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 tenminste 99% worden teruggevonden.

## 8. Opmerkingen

- 8.1 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.
- 8.2 Herhaal de bepaling met een grotere hoeveelheid zwavelzuur (3.4) dan onder 5.1 is vermeld, wanneer het materiaal tijdens het ontsluiten vast wordt.
- 8.3 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.