

# Kjeldahl-Stickstoffbestimmung mit verschiedenen Katalysatoren

Autor(en): **Ugrinovits, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **71 (1980)**

Heft 1

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983509>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

M. Ugrinovits, Wander AG, Neuenegg

## Kjeldahl-Stickstoffbestimmung mit verschiedenen Katalysatoren\*

### Einleitung

Seit 1883, als *J. Kjeldahl* seine Methode zur Stickstoffbestimmung in der Zeitschrift für Analytische Chemie bekanntgab (1), ist die Anzahl der Veröffentlichungen, die sich mit diesem Thema befaßten, kaum übersehbar und hat die Grenze von 1000 schon überschritten.

In der letzten Zeit hat aber die Frage der Umweltverschmutzung, so auch die Reinheit bzw. Qualität der Abwässer, sehr an Bedeutung zugenommen. So ist die Frage der toxischen Bestandteile der Abwässer, die ein analytisches Labor verlassen, auch im Hinblick auf die Abwasserreinigungsanlagen ein wichtiges Problem geworden. Die für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl bisher verwendeten Katalysatoren oder Katalysatormischungen wie Quecksilber, Selen, Titan sind alle mehr oder weniger toxisch und sollten nach Möglichkeit nicht verwendet werden.

Als Ersatz bietet sich die Verwendung von Kupfer als Katalysator an. Wie *Kjeldahl* erwähnte *Wilfarth* (2) 1885 Kupfer. *Kürschner* und *Scharrer* (3) empfahlen 1926 ausschließlich Kupfer als Katalysator und Reduktionsmittel. In der Zeit von 1939 bis 1942 haben etliche Autoren die ausschließliche oder kombinierte Verwendung von Cu vorgeschlagen (4—8). Die katalytische Wirkung von Kupfer tritt aber bedeutend langsamer ein als bei den anderen gebräuchlichen Mischungen. So konnte sich die Verwendung dieses Katalysators nicht durchsetzen. Erst am «88th Annual Meeting of the Association of Official Analytical Chemists» (AOAC), im Oktober 1974 wurde neuerdings vom erfolgreichen Einsatz von Kupfer als Katalysator bei Stickstoffbestimmungen berichtet (9, 10). Die gleichen Autoren verwendeten diesen Katalysator bei einer großen Anzahl verschiedener Produkte, wobei sich die Methode gegenüber der offiziellen AOAC-Methode (Hg oder HgO) sogar als ein wenig präziser erwies (11).

Aus diesem Grunde haben wir uns entschieden, die offizielle Methode des Schweiz. Lebensmittelbuches (12) gegenüber der neuen sogenannten «Missouri»-Methode (10) zu testen.

\* Als Poster präsentiert.

## Experimentelles

### Aufschlußtemperatur

Der auffallendste Unterschied zwischen beiden Methoden ist die stark erhöhte Katalysatormenge pro Ansatz: 7,5 g «Missouri» pro 10 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gegenüber 3 g Quecksilberkatalysator pro 10–20 ml Schwefelsäure. Da die Neutralsalze zwecks Siedetemperaturerhöhung zugesetzt werden und gemäß Van't Hoff'scher Regel eine Temperaturerhöhung um ca.  $10^\circ\text{C}$  eine Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeit verursacht, wollten wir wissen, wie hoch die effektive Naßveraschungstemperatur ist. Die diesbezüglichen Literaturangaben (13–19) schwanken sehr stark, so daß wir die effektiven Temperaturen selber ausgemessen haben (siehe Abb. 1). Die Temperaturerhöhung bei Verwendung von «Missouri»-Katalysator beträgt demnach  $16^\circ\text{C}$  gegenüber dem LMB-Quecksilberkatalysator.

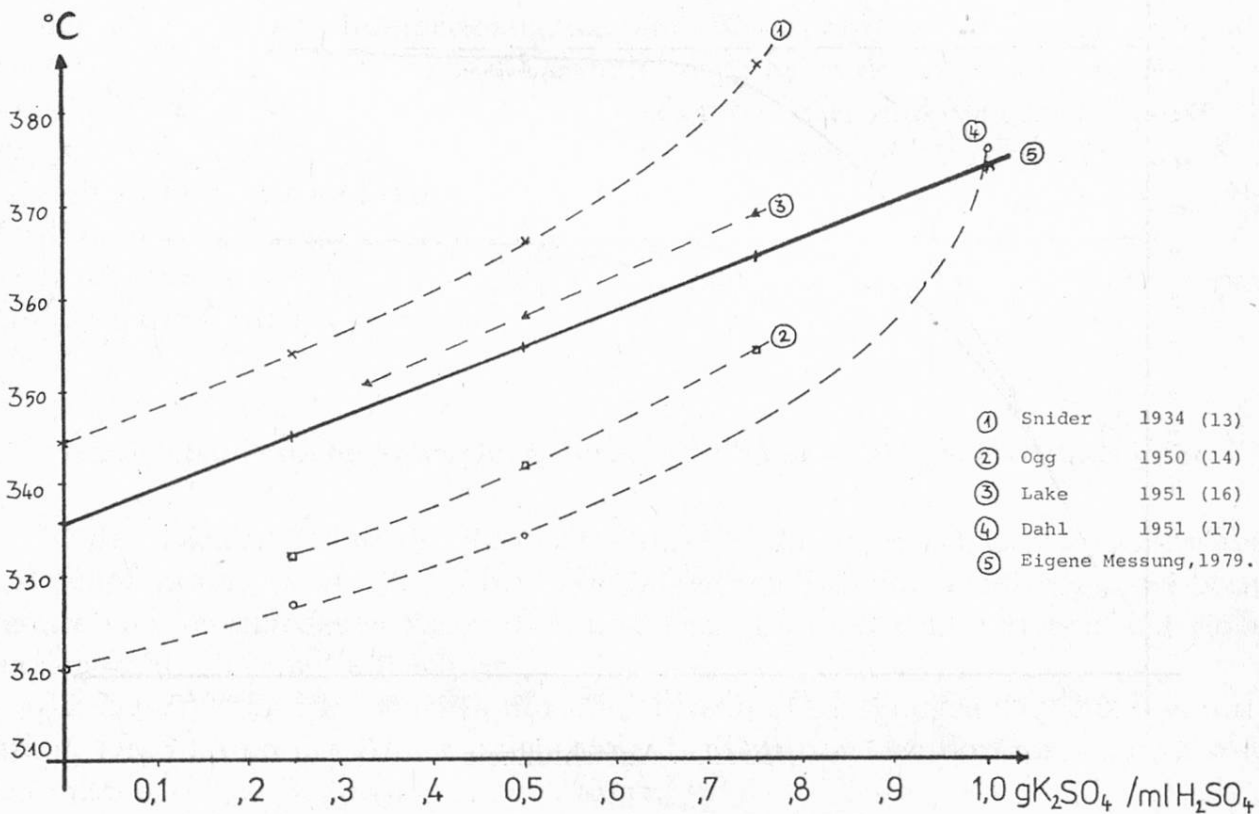


Abb. 1. Aufschlußtemperaturen

### Aufschlußzeit

Bei Erhitzung des Reaktionsgemisches wird die Lösung nach einer gewissen Zeit klar. Nach *Hadorn* (20–21) ist die Aufschlußzeit bei Verwendung des Katalysatorgemisches nach Schweiz. Lebensmittelbuch relativ kurz. Das Reaktionsgemisch erscheint nach 15–20 min klar, nach weiteren 30 min ist der Aufschluß beendet. Dies bestätigten auch die Zusatzversuche zum Ringversuch (siehe 2. Teil).

Eine Verlängerung der Nachkochzeit von 30 auf 70—75 min ergab keinen signifikant erhöhten Stickstoffgehalt.

Bei Verwendung des «Missouri»-Katalysators ist die Reaktion trotz erhöhter Temperatur bedeutend langsamer. Dies ist sicherlich auf die geringere katalytische Wirkung des Kupfers zurückzuführen. Wie unsere Versuche mit Aminosäuren zeigten, ist hier die Reaktion erst nach ca. 90 min beendet (Abb. 2). Die Versuche wurden mit Glutaminsäure und Tryptophan durchgeführt, da nach *Morita* (22) sich die Aminogruppe und der heterogengebundene Stickstoff ohne N-N-Bindung am langsamsten zersetzen. Eine genügend lange Reaktionszeit von mindestens 90 min ist eine unbedingte Voraussetzung bei Verwendung von Kupferkatalysator-mischungen.

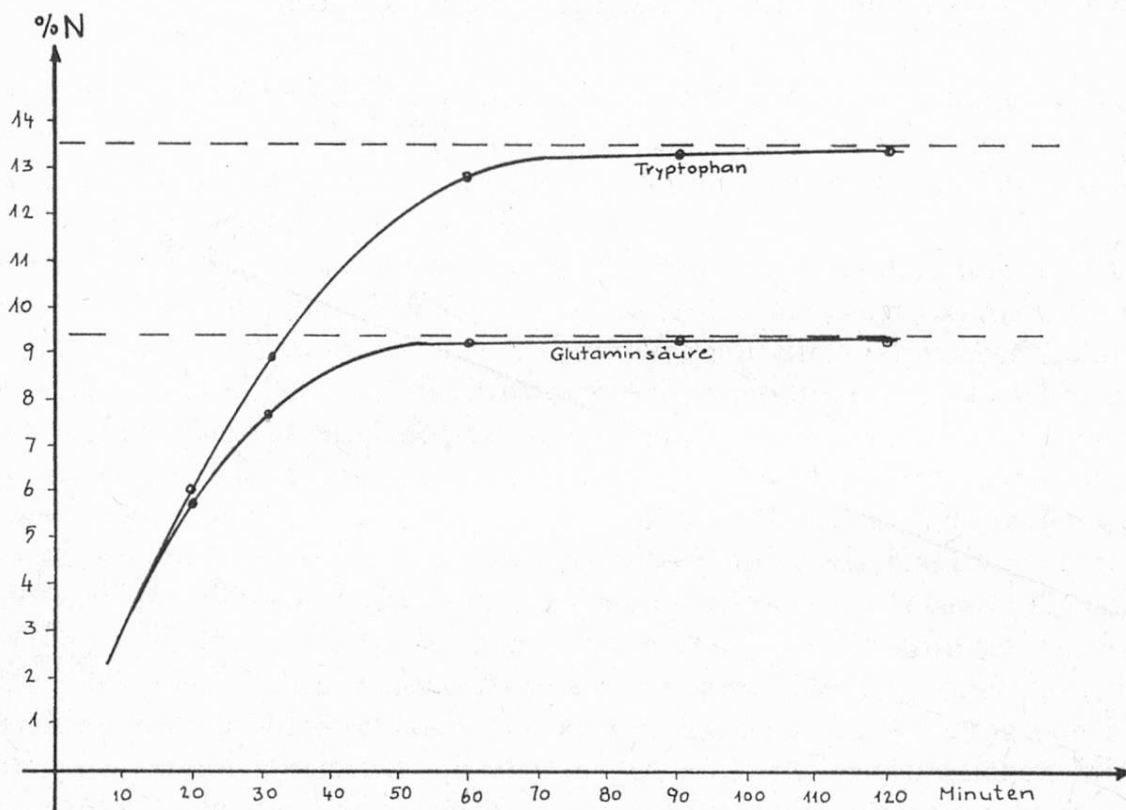


Abb. 2. Aufschlußzeit

### Zusätze oxidierender Reagenzien

In der Literatur wird gelegentlich der Zusatz von oxidierenden Reagenzien als Aufschlußhilfsmittel bei biologischen Materialien empfohlen. *Beet* (23) arbeitet mit Kaliumpermanganatzusatz, *Lento* (24) und *Krijgsman* (25) mit Perchlorsäure, *McKenzie* (18) und *Thaler* (26) mit Wasserstoffsuperoxid.

Perchlorsäure haben wir wegen ihren bekannten gefährlichen Eigenschaften nicht nachgeprüft. Die Versuche mit Wasserstoffsuperoxid und Kaliumpermanganat ergaben die in Tabelle 1 wiedergegebenen Resultate:

Tabelle 1. Gefundene Stickstoffwerte (in %)

		$\bar{x}$	s	n
Hg Katalysator ohne Zusatz	30 min	12,76	0,069	6
	90 min	12,78	0,065	6
+ 1 g KMnO <sub>4</sub>	30 min	12,77	0,060	6
	90 min	12,80	0,074	6
+ 2 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	30 min	12,60	0,082	6
	90 min	12,75	0,071	6

Versuchsbedingungen: Wie Ringversuch 1 (siehe Teil 2)

Bei Zusatz von Kaliumpermanganat und Wasserstoffsuperoxid verkürzte sich die Aufklärzeit sehr stark. Auf die Gehaltswerte hatte der Zusatz keinen Einfluß, außer bei 30 min Nachkochzeit und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Zugabe. Hier sind die gefundenen Stickstoffwerte signifikant tiefer als alle anderen. Die Ursache kann bei der stark verkürzten Aufklärzeit und damit verbundenen kürzeren Reaktionszeit sowie an der Verdünnung der Schwefelsäure durch das gebildete Wasser liegen.

Nach diesen Resultaten wurde bei den weiteren Versuchen auf einen Zusatz von Oxidationsmitteln verzichtet.

#### Vergleichsversuche Schweiz. Lebensmittelbuch — Missouri-Katalysator

In der Tabelle 2 sind die Resultate von Vergleichsversuchen mit Quecksilber und Kupferkatalysator aufgeführt. Wir haben uns bemüht, eine möglichst breite Palette von verschiedenen Rohstoffen und Fertigprodukten zu untersuchen, wobei die Auswahl sicher willkürlich ist.

Bei diesen Versuchen wurden nur die Aufschlußbedingungen variiert. Neutralisation, Destillation des Ammoniaks sowie die Titration der Borsäurevorlage wurden unter gleichen Bedingungen ausgeführt.

Zum Aufschluß verwendeten wir den neuen Aufschlußapparat 425 von Büchi. Es ist sehr wichtig, darauf zu achten, daß im Apparat kein Vakuum entsteht (sehr locker gestopfte Watte), da sonst bei 90 min Aufschlußzeit die Flüssigkeit stark eindampfen kann, was unweigerlich zu Stickstoffverlusten führt und somit zu niedrige Resultate ergibt.

#### Statistische Auswertung

Bei einem Vergleich der Varianzen innerhalb der Proben ist kein Unterschied feststellbar, die Präzision beider Methoden ist gleich.

Tabelle 2. Stickstoffwerte von verschiedenen Rohstoffen (in %) )

Produkt :	LMB-Katalysator (Hg)				«Missouri»-Katalysator (Cu)				Differenz : LMB-Missouri		Sta- tistik
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n	% abs. :	% rel. :	
Eiklarpulver	12,76	0,071	0,56	6	13,09	0,050	0,38	7	0,33	2,52	++
Volleipulver	7,39	0,069	0,93	5	7,51	0,058	0,77	6	0,12	1,60	(+)
Malzextrakt	0,79	0,006	0,76	5	0,80	0,007	0,88	6	0,01	1,25	(+)
Sojavollmehl	6,43	0,033	0,51	6	6,49	0,025	0,39	6	0,06	0,92	+
Magermilchpulver	5,92	0,045	0,76	6	5,90	0,036	0,61	6	-0,02	-0,34	-
Ca-Caseinat	13,31	0,090	0,68	6	13,33	0,087	0,65	6	0,02	0,15	-
Kakaopulver	3,47	0,024	0,69	5	3,53	0,025	0,71	5	0,05	1,70	+
Oxtailsuppe	1,78	0,018	1,01	5	1,83	0,016	0,87	5	0,05	2,73	+
Sportlergetränk	0,12	0,002	1,67	5	0,12	0,002	1,67	5	0,00	0,00	-
Fertiggericht I	1,11	0,012	1,08	6	1,17	0,011	0,94	5	0,06	5,13	++
Fertiggericht II	1,03	0,014	1,36	5	1,01	0,016	1,58	5	-0,02	-1,98	-
Frühstücksgetränk I	1,19	0,010	0,84	6	1,25	0,011	0,88	6	0,06	4,80	++
Frühstücksgetränk II	2,43	0,010	0,41	6	2,48	0,008	0,32	6	0,05	2,02	++
Kindernährmittel I	1,70	0,014	0,82	6	1,71	0,012	0,71	6	0,01	0,59	-
Kindernährmittel II	2,70	0,018	0,67	6	2,68	0,016	0,60	6	-0,02	-0,75	-

Statistik: Ein Unterschied ist

- nicht feststellbar
- (+) wahrscheinlich
- + signifikant
- ++ hochsignifikant

Bei einem Vergleich der Mittelwerte kann in 6 von insgesamt 15 Proben kein Unterschied festgestellt werden. Bei den anderen Proben ergibt die LMB-Methode niedrigere Werte. Es ist also zu erwarten, daß die Missouri-Methode bei anderen Lebensmitteln auch meistens höhere, d. h. richtigere Werte liefert. Der Unterschied fällt aber allenfalls bei reinen Proteinen, nicht aber bei normalen Lebensmitteln ins Gewicht.

### Ringversuch

Im Rahmen der Revision des Kapitels 22, «Diätetische Lebensmittel» des Schweiz. Lebensmittelbuches, wurde die Proteinbestimmung nach Kjeldahl mit verschiedenen Katalysatoren in einem Ringversuch getestet.

Beteiligt waren:

Kantonales Laboratorium, Bern  
Laboratoire de contrôle Nestec, La Tour-de-Peilz  
Zentralanalytik-Nahrungsmittelforschung Wander AG, Neuenegg  
Analytisches Labor Galactina AG, Belp  
Zentrallaboratorium Migros-Genossenschaftsbund, Zürich

### Versuchsbedingungen

#### Testmuster

Als Testmuster haben wir getrocknetes Hühnereiweiß gewählt. Die Gründe dafür waren:

- Hoher Eiweißgehalt
- Viel heterozyklisch gebundenes N
- Nach *Hadorn* (19) ausgeprägte Unterschiede bei der Stickstoffbestimmung mit verschiedenen Katalysatoren.

Das Muster wurde gut homogenisiert und in luftdichte Gläschen abgefüllt.

Die Einwaage pro Bestimmung betrug ca. 0,1 g.

### Katalysatoren

Im Ringversuch wurden folgende Katalysatormischungen verwendet:

#### Versuch 1: Quecksilber

Nach LMB, Band I, Seite 519:

100 g  $K_2SO_4$   
3 g HgO  
0,3 g Selenpulver

Katalysatormenge pro Ansatz: 3 g

### Versuch 2: Selen

Katalysatormischung nach Wieninger in Tablettenform, Merck Nr. 10958.

Zusammensetzung nach Literatur (27):

100 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   
1,6 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   
1,6 g Selen

Katalysatormenge pro Ansatz: 1 Tablette (= 5 g).

### Versuch 3: Titan

Dieser Katalysator wurde von der AIIBP (Association internationale de l'industrie des bouillons et potages) getestet und empfohlen:

93 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$   
3 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   
3 g  $\text{TiO}_2$   
1 g Stearinsäure

Katalysatormenge pro Ansatz: 4 g.

### Versuch 4: Missouri

Nach der «Experiment Station Chemical Laboratoires, University of Missouri, Columbia» (9, 10):

100 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$   
0,4 g  $\text{CuSO}_4$

Katalysatormenge pro Ansatz: 7,5 g.

### Schwefelsäuremenge

Nach Literaturangaben kann das Verhältnis der verwendeten Schwefelsäuresubstanz einen Einfluß auf die gefundene Stickstoffmenge haben. Wie *Hadorn* (19, 20) bei seinen Versuchen feststellte, haben eine Schwefelsäuremenge von 5–10 ml und eine Eiweißmenge von 0,1 bis 0,24 g keinen Einfluß auf das Resultat. Der Ringversuch wurde darum mit 10 ml Schwefelsäure durchgeführt. Als Kontrolle wurde im Labor A der Versuch 1 (Quecksilber) mit nur 5 ml Schwefelsäure, sonst aber mit identischen Bedingungen wiederholt.

Resultate (in % N)	10 ml $\text{H}_2\text{SO}_4$	5 ml $\text{H}_2\text{SO}_4$
$\bar{x}$	12,76	12,77
<i>s</i>	0,069	0,052
<i>n</i>	6	6

Nach dem t- und F-Test besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Meßreihen.



## Aufschlußzeit

In der Literatur wird bei den einzelnen Katalysatoren eine kürzere oder längere Nachkochzeit nach dem Klarwerden des Reaktionsgemisches verlangt. Zu langes Weitererhitzen könnte zu Stickstoffverlusten durch Verflüchtigung von Ammoniumsulfat führen.

Aus diesem Grunde haben wir für die Versuche 1—3 eine Nachkochzeit von 30 min (nach dem Klarwerden der Lösung) vorgeschrieben. Wie aus den Versuchen im Teil 1 ersichtlich, genügt diese Zeit bei Versuch 4 (Missouri) nicht. Hier wurde die Gesamtaufschlußzeit auf 90 min festgelegt.

Als Nachkontrolle wurden auch hier im Labor A unter identischen Bedingungen, jedoch mit verlängerter Aufschlußzeit von 90 min, Versuche durchgeführt (Resultate in % N):

Katalysator	Ringversuch			90 min Aufschluß		
	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	n
Quecksilber	12,76	0,069	6	12,78	0,065	6
Selen	12,87	0,053	6	12,84	0,042	8
Titan	12,90	0,058	6	12,96	0,046	8

t- und F-Test ergeben keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Zahlenreihen; die beiden Aufschlußzeiten haben keinen Einfluß auf das Stickstoffresultat.

## Apparatives

Die Art des Aufschluß- und Destillationsapparates sowie die Titration wurden nicht vorgeschrieben, aber festgehalten, da die Ausrüstung in den diversen Labors nicht einheitlich war.

## Aufschluß

2 Laboratorien verwendeten Kjeldahl-Kolben und Infrarotkalotten, 3 Laboratorien dagegen den neuen Büchi-Aufschlußapparat mit Aufschlußgläsern.

## Destillation

In 3 Laboratorien erfolgte die Destillation mit dem Büchi-Automaten und 2 Laboratorien verwendeten den alten Büchi-Destillationsapparat.

## Titration

Die Art der Titration wurde ebenfalls freigestellt. 2 Laboratorien führten die Titration mit Hilfe von Dosimat aus und bestimmten den Endpunkt visuell mit Hilfe von Indikatoren. 3 Laboratorien erfaßten den Endpunkt potentiometrisch mit dem Methrom-Titrator.

Es wurde ein Reagenzienblindwert für jeden Versuch bestimmt, und falls der Verbrauch an 0,1 n Schwefelsäurelösung höher war als 0,02 ml, wurde dieser bei den weiteren Versuchen vom Schwefelsäureverbrauch abgezogen.

### Auswertung der Versuche

Es wurden von jedem beteiligten Laboratorium mindestens 5 Meßwerte pro Versuch sowie je ein Reagenzienblindwert verlangt.

Die erhaltenen Werte wurden mit dem Nalimov-Test auf Ausreißer geprüft und diese dann entfernt. Die verbliebenen Zahlen haben wir nach dem t- und F-Test sowie dem Bartlett-Test auf Homogenität geprüft. Es zeigte sich, daß das Laboratorium, das «zu gut», d. h. mit einer sehr kleinen Standardabweichung arbeitete, eine Zusammenfassung der Meßwerte verunmöglicht. Statistisch mag dies stimmen, ob es aber der Laboratoriumspraxis entspricht, mag dahingestellt sein.

### Die Ergebnisse des Ringversuches

Die Ergebnisse des Ringversuches sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Abbildung 3 zeigt die einzelnen Meßwerte, den Streubereich der Einzelwerte ( $T$ ) sowie den Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und den Vertrauensbereich ( $VB$ ), d. h. den Streubereich des Mittelwertes, in ‰ N.

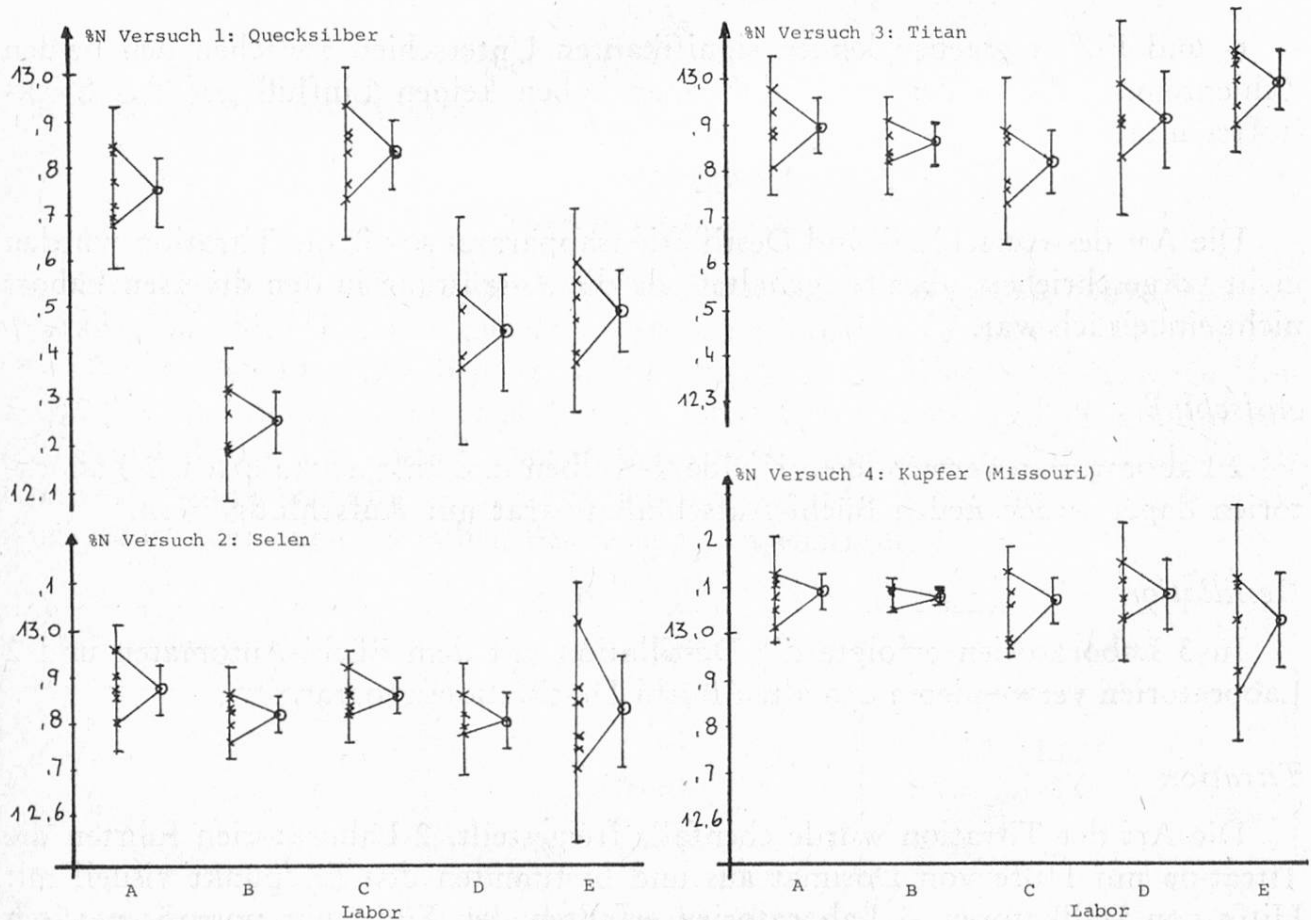


Abb. 3. Graphische Auswertung des Ringversuches

Tabelle 3. Ringversuch: Kjeldahl-Stickstoffbestimmung (in %) )

Versuch 1: Quecksilber						Versuch 2: Selen					
Labor:	A	B	C	D	E	Labor:	A	B	C	D	E
$\bar{x}$	12,76	12,26	12,84	12,46	12,50	$\bar{x}$	12,88	12,82	12,76	12,81	12,83
$\pm s$	0,07	0,07	0,07	0,08	0,09	$\pm s$	0,05	0,04	0,04	0,04	0,11
$\pm T$	0,18	0,17	0,19	0,25	0,22	$\pm T$	0,14	0,10	0,10	0,13	0,29
$VB_{\bar{x}}$	0,15	0,13	0,15	0,15	0,18	$VB_{\bar{x}}$	0,11	0,08	0,08	0,12	0,24
$n$	6	6	4	4	6	$n$	6	6	6	4	6

Versuch 3: Titan						Versuch 4: Missouri					
Labor:	A	B	C	D	E	Labor:	A	B	C	D	E
$\bar{x}$	12,90	12,86	12,82	12,91	12,00	$\bar{x}$	13,09	13,08	13,07	13,09	13,03
$\pm s$	0,06	0,04	0,07	0,07	0,06	$\pm s$	0,05	0,02	0,05	0,05	0,10
$\pm T$	0,15	0,11	0,18	0,21	0,16	$\pm T$		0,04	0,12	0,16	0,27
$VB_{\bar{x}}$	0,12	0,09	0,14	0,19	0,13	$VB_{\bar{x}}$	0,09	0,04	0,10	0,16	0,22
$n$	6	5	6	4	6	$n$	7	6	6	4	6

Die Resultate von t-, F- und Bartlett-Test zeigt die Tabelle 3.

Tabelle 4. Ringversuch: Kjeldahl-Stickstoffbestimmung

Labor / Labor	t-test, Vergleich von Mittelwerten ( $\bar{x}$ )				F-Test, Vergleich von Varianzen ( $s^2$ )			
	Quecksilber	Selen	Titan	Missouri	Quecksilber	Selen	Titan	Missouri
A / B	++	—	—	—	—	—	—	+
A / C	—	—	—	—	—	—	—	—
A / D	++	(+)	—	—	—	—	—	—
A / E	++	—	(+)	—	—	—	—	—
B / C	++	—	—	—	—	—	—	(+)
B / D	+	—	—	—	—	—	—	—
B / E	++	—	+	—	(+)	(+)	—	++
C / D	++	—	—	—	—	—	—	—
C / E	++	—	+	—	(+)	(+)	—	—
D / E	—	—	—	—	—	—	—	—
Bartlett-Test:					—	—	—	(+)

— kein Unterschied zwischen den Werten  
 (+) wahrscheinlich ein Unterschied

+ signifikanter Unterschied  
 ++ hoch-signifikanter Unterschied

### Quecksilberkatalysator (Versuch 1)

Der F-Test zeigt nur wahrscheinliche Unterschiede. Durch den Bartlett-Test sind Unterschiede zwischen  $s_j$ -s nicht feststellbar. Der t-Test ergibt aber hochsignifikante Unterschiede, die Mittelwerte der einzelnen Labors sind nicht vergleichbar. Eine Homogenität wäre nur erreichbar wenn mindestens 3 Labors eliminiert würden. Alle  $\bar{x}$ -Werte sind aber signifikant niedriger als die Stickstoffwerte mit dem «Missouri»-Katalysator.

Der Selenkatalysator (Versuch 2) zeigt sehr gute Uebereinstimmung bei den gefundenen Stickstoffwerten. Die Daten sind homogen und können zusammengefaßt werden.

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 12,821 \text{ \% N} \\ s &= 0,0715 \\ f &= 27\end{aligned}$$

Der Titankatalysator (Versuch 3) ergibt homogene Daten nach Eliminierung von Labor E.

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 12,896 \text{ \% N} \\ s &= 0,0824 \\ f &= 26\end{aligned}$$

Beim Missouri-Katalysator (Versuch 4) ergeben Bartlett- und F-Test einen Unterschied zwischen den Labors. Die Ursache dafür sind «zu gute» Werte von Labor B. Es fragt sich, ob bei einer größeren Anzahl Bestimmungen diese Präzision beibehalten werden könnte. Die Eliminierung der Werte dieses Labors ist also diskutabel, zur Vermeidung einer zu guten Standardabweichung aber sicher sinnvoll. (In Klammern die Werte ohne Eliminierung.)

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 13,096 \quad (13,0714) \text{ \% N} \\ s &= 0,0671 \quad (0,0602) \\ f &= 22 \quad (28)\end{aligned}$$

Die Wiederholbarkeit, die absolute Differenz, die im gleichen Labor mit gleichem Gerät von der gleichen Person in einer kurzen Zeitspanne erreicht werden kann, ist für alle vier Katalysatoren gleich.

#### Wiederholstandardabweichung:

	$s_I$	$VK_I$	$t_I$
Quecksilber	0,0761	0,5899	23
Selen	0,0639	0,4984	23
Titan	0,0609	0,4722	22
Missouri	0,0669	0,5119	19

Die Vergleichbarkeit, die Differenz zwischen Resultaten, die zwar mit identischem Material, aber unter verschiedenen Bedingungen (Geräte, Personen Labors)

durchgeführt wurden, ist für die Methoden Selen, Titan, Missouri gleich. Beim Quecksilber sind die Daten inhomogen (zu großer  $s_z$ ) und darum als Vergleichsanalysen zwischen verschiedenen Labors nicht geeignet.

	$\bar{x}$ (in ‰ N)	s	f
Quecksilber	Daten nicht homogen		
Selen	12,821	0,0715	27
Titan	12,896	0,0824	26
Missouri	13,069	0,0671	22

Die gefundenen Gesamtmittelwerte ( $\bar{x}$ ) sind bei allen 3 Methoden hochsignifikant verschieden. Obwohl wir den wahren Stickstoffgehalt vom Eiklarpulver nicht kennen, kann doch angenommen werden, daß die Missouri-Methode, aufgrund der höchsten Stickstoffausbeute, die kleinste Abweichung vom wahren Stickstoffgehalt aufweist. Sie kann daher für Vergleichsanalysen den anderen vorgezogen werden.

Für Analysen mit dem «Missouri»-Katalysator bei Eiklarpulver ergaben sich folgende Daten:

Ringversuchstandardabweichung

für Wiederholbedingungen

$$s_r = 0,0669 \quad f_r = 19$$

für Vergleichsbedingungen:

$$s_R = 0,0671 \quad f_r = 22$$

Wiederholstreubereiche:

$$T_r (95) = 0,140$$

$$T_r (99) = 0,191$$

Vergleichsstreubereiche:

$$T_R (95) = 0,139$$

$$T_R (99) = 0,190$$

### Schlußfolgerungen

Will man die Resultate beider Versuchsreihen zusammenfassen, kommt man zu folgendem Resultat:

	Eigene Versuche (15 Lebensmittel)		Ringversuch (Eiklarpulver)			
	VK <sub>r</sub>	f <sub>r</sub>	$\bar{x}$ (in ‰ N)	s <sub>I</sub>	VK <sub>I</sub>	f <sub>I</sub>
LMB (Hg)	0,886	69	(12,9)*	0,0761	0,5899	23
Missouri (Cu)	0,770	67	13,07	0,0669	0,5119	19

\* Mittelwert statistisch nicht gesichert.

Leider zeigt sich nun, daß die laborinterne mittlere relative Standardabweichung von 14 Proben signifikant größer ist als die von verschiedenen Labors aus einer Probe erreichte. Dies weist darauf hin, daß auch die relative Ringversuchsstandardabweichung von  $\pm 0,512\%$  rel. für das Eiklarpulver nicht ohne weiteres auf alle Lebensmittelproben übertragbar ist.

## Arbeitsvorschrift

### Prinzip

Das zu analysierende Material wird mit Schwefelsäure und Katalysator aufgeschlossen, das entstandene Ammoniak mit Lauge freigesetzt und mittels Wasserdampf in eine Borsäurevorlage destilliert und anschließend titriert.

### Reagenzien

Schwefelsäure	98 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> , z. A. NH <sub>3</sub> 0,0002 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Natronlauge	50 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> ig, z. A.
Katalysatormischung:	100 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,3 g CuSO <sub>4</sub> im Mörser gut mischen.

### Borsäurelösung

60 g Borsäure z. A. in ca. 1900 ml heißem dest. Wasser lösen, abkühlen. 15 ml Mischindikator zugeben und auf 2 Liter auffüllen.

### Mischindikator

- In einem 250-ml-Meßkolben 100 ml Wasser vorlegen,
- 0,35 g Bromkresolgrün, gelöst in ca. 10 ml Aethanol z. A.
  - 0,22 g Neucoccon, Agfa-Gevaert, gelöst in ca. 100 ml Wasser
  - 10,00 ml 0,1 n NaOH Lösung und
  - 0,75 g 4-Nitrophenol gelöst in 5 ml Aethanol zugeben und mit destilliertem Wasser auffüllen.

### Apparate

Infrarot-Aufschluß-Apparat  
Destillationsapparat  
Titrationsvorrichtung.

### Ausführung der Bestimmung

— Die Einwaage richtet sich nach dem Proteingehalt:

% N	% Rohprotein	Einwaage g
ca. 0,5	ca. 3	ca. 2,0000
1	6	1,5000
2	12	1,0000
5	30	0,2500
10	60	0,1500
15	90	0,1000

- Die gut homogenisierte Probe (wichtig!) einwiegen und in den Aufschlußkolben bringen.
- 7,5 g Katalysator und 10 ml Schwefelsäure zugeben.
- Erhitzen bis Dämpfe verschwinden.
- Während 90 min weitererhitzen.

### Destillation

Die Weiterbehandlung des Aufschlusses richtet sich nach dem für die Destillation eingesetzten Gerätetyp.

- Aufschlußlösung nach Erkalten des Kolbens mit ca. 10 ml Wasser verdünnen.
- Natronlauge im Ueberschuß zugeben (ca. 20 ml).
- Als Vorlage dient ein mit 20 ml Borsäurelösung beschicktes Becherglas.
- Destillieren, der erste Tropfen Destillat läßt den Indikator umschlagen.
- Die Destillationsdauer richtet sich nach dem verwendeten Gerätetyp (4—10 min ab Umschlag).

### Titration

Die Titration mit 0,1 n Säure kann visuell auf den Indikatorumschlag oder potentiometrisch auf pH 4,6 erfolgen.

### Berechnung

1 ml 0,1 n Säure entspricht 1,4008 mg N.

### Bemerkungen

- Von sehr heterogen zusammengesetzten und schwer homogenisierbaren Proben größere Einwaagen wählen. Aufschlußlösung auf ein bestimmtes Volumen auffüllen und einen aliquoten Teil wie üblich destillieren.

- Von Proben mit sehr niedrigem N-Gehalt größere Einwaagen wählen. Ein Reagenzienblindwert ist parallel mitzuführen und bei der Berechnung in Abzug zu bringen.

### *Dank*

Herrn Dr. E. Walter, Kantonales Laboratorium Bern, danken wir für die Berechnung bzw. Kontrolle der statistischen Daten.

### *Zusammenfassung*

Eine nicht toxische und daher umweltfreundliche Katalysatormischung, der sogenannte «Missouri»-Katalysator ( $K_2SO_4$  und  $CuSO_4$ ), wurde bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl getestet. Er erwies sich gegenüber dem im Schweiz. Lebensmittelbuch beschriebenen stark giftigen Quecksilber/Selen-Katalysator bei verschiedenen Roh- und Fertigprodukten als mindestens ebenbürtig.

Eine Prüfung im Ringversuch mit getrocknetem Hühnereiweiß zwischen den Katalysatoren Quecksilber/Selen (LMB), Selen/Kupfer (Wieninger), Titandioxyd (AIIBP) und Kupfer (Missouri) ergab bei gleicher Präzision mit Kupferkatalysator die höchste Stickstoffausbeute.

### *Résumé*

Un mélange catalyseur non toxique et, par conséquent, non polluant a été testé dans le dosage de l'azote selon Kjeldahl. Il s'agit du mélange catalyseur selon Missouri ( $K_2SO_4$ — $CuSO_4$ ) qui a été comparé au catalyseur fortement toxique à base de mercure-sélénium, décrit dans le Manuel suisse des denrées alimentaires (MSDA). Essayé sur différentes matières premières et sur différents produits finis, les mêmes résultats ont été obtenus avec les 2 catalyseurs.

Dans un test interlaboratoire les quatre mélanges catalyseurs suivants ont été testés sur du blanc d'œuf deshydraté: mélange mercure-sélénium (MSDA), mélange sélénium-cuivre (Wieninger), mélange dioxyde de titane (AIIBP) et mélange sulfate de cuivre (Missouri). La reproductibilité s'est avérée la même pour chacun des catalyseurs, mais celui selon Missouri a donné le rendement en azote le plus élevé.

### *Summary*

The so called Missouri-catalyst ( $K_2SO_4$  and  $CuSO_4$ ) has been tested for the determination of nitrogen according to Kjeldahl. This is a non toxic and therefore for the environment beneficial catalyst mixture. In several raw materials and finished products it proved to be at least a match for the very toxic mercury/selen catalyst, as described in the Swiss Food Handbook (LMB).

A check sample survey of dried egg white utilizing the catalysts mercury/selen (LMB), selen/copper (Wieninger), titan dioxide (AIIBP) and copper (Missouri) gave the highest nitrogen yield — at same precision — with the copper catalyst.



## Literatur

1. *Kjeldahl, J.*: Ueber die Stickstoffbestimmung. Z. anal. Chem. **22**, 366—370 (1883).
2. *Wilfarth, M.*: Z. anal. Chem. **24**, 455 (1885).
3. *Kürschner, K. und Scharrer, K.*: Die Verwendung von Kupferpulver in der analytischen Chemie. Z. anal. Chem. **68**, 1—14 (1926).
4. *Lepper, W.*: Die Anwendung von Kupfersulphat anstelle von Quecksilber bei der Kjeldahl-Stickstoff-Analyse. Landwirtsch. Vers.-Sta. **111**, 155—158 (1930).
5. *Sandstedt, R. M.*: A Note on the use of selenium as a catalyst in Kjeldahl digestion. J. Agr. Sci. **26**, 239—248 (1936).
6. *Ashton, F. L.*: Selenium as a catalyst in the Kjeldahl method as applied to soil and grass analysis. J. Agr. Sci. **26**, 239—248 (1936).
7. *Nagosi, T. and Nakagawa, I.*: Some catalyst in the Kjeldahl digestion. J. Sci. Soil Man. **11**, 433—438 (1937).
8. *Beatty, C.*: Anhydrous  $\text{CuSO}_4$  in the Kjeldahl-nitrogen-determination. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **15**, 426—428 (1943).
9. *Rexroad, P. R., Cathey, R. D. and Gehrke, C. W.*: The Kjeldahl nitrogen determination. Paper presented at 88th Annual AOAC Meeting, Okt. 15. 1974 Washington, D. C.
10. *Wall, L. L., Gehrke, C. W., Neuner, T. E., Cathey, R. D. and Rexroad, P. R.*: Total protein nitrogen. An evaluation and comparison of four different methods. Paper presented at 88th Annual AOAC Meeting, Okt. 15. 1974, Washington, D. C.
11. *Rexroad, D. R. and Cathey, R. D.*: Pollution reduced Kjeldahl method for crude protein. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **59**, 1213—1217 (1976).
12. Schweizerisches Lebensmittelbuch 2. Bd., S. 519. Eidg. Drucksachen- u. Materialzentrale, Bern 1964.
13. *Snider, S. R. and Colemann, D. A.*: Some observations on the use of selenium and its compounds as a catalyst in the determination of protein in wheat by the Kjeldahl method. Cereal Chem. **11**, 414—430 (1934).
14. *Ogg, C. L. and Willits, C. O.*: Boiling temperatures of Kjeldahl digestion mixtures J. Assoc. Offic. Agr. Chemists **33**, 100—103 (1950).
15. *Middleton, G. and Stuckey, R. E.*: Standardisation of digestion in Kjeldahl nitrogen-determination. J. Pharm. and Pharmacol. **3**, 829—841 (1951).
16. *Lake, Cr. R.*: Effects of digestion temperature on Kjeldahl analyses. Anal. Chem. **23**, 1634—1638 (1951).
17. *Dahl, S. and Oehler, R.*: The determination of nitrogen in leather by the Kjeldahl-method. J. Am. Leather Chemists. Assoc. **46**, 317—335 (1951).
18. *McKenzie, H. A. and Wallace, H. S.*: The Kjeldahl determination of nitrogen. Australian J. Chem. **7**, 55—58 (1954).
19. *Baker, P. R. W.*: Micro Kjeldahl determination of nitrogen. The effects of added salts and catalysts. Talanta **8**, 57—71 (1961).
20. *Hadorn, H., Jungkunz, R. und Bieffer, K. W.*: Ueber die Stickstoffbestimmung in Lebensmitteln nach Kjeldahl und den Einfluß des Katalysators im besonderen. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **44**, 14—29 (1953).
21. *Hadorn, H. und Obrist, Ch.*: Systematische Versuche mit verschiedenen Katalysatoren für den Kjeldahl-Aufschluß. Deut. Lebensm. Rundschau **69**, 109—155 (1973).
22. *Morita, Y.*: The Kjeldahl nitrogen determination. Bull. Chem. Soc. Japan **41**, 2029—2032 (1968).

23. *Beet, A. E.*: Potassium permanganate in the Kjeldahl method for determining nitrogen in organic substances. *Nature* **175**, 513—514 (1955).
24. *Lento, H. G.* and *Dangherty, C. E.*: *Techn. Int. Congr.* 1970. Advances in automated analysis **2**, 75—80 (1971).
25. *Krijgsman, R.* und *Simons, J. G.*: Simple and reliable determination of total nitrogen. *Z. anal. Chem.* **259**, 274—277 (1972).
26. *Thaler, H.* und *Sackmann, F.*: Die Proteasen des Mehles. *Getreide u. Mehl* **7**, 99—101 (1957).
27. *Wieninger, F. M.*: Bemerkungen zu einer schnellen Stickstoffbestimmungsmethode mit Selen als Katalysator. *Wochschr. Bra.* **53**, 251—252 (1936).

M. Ugrinovits  
Wander AG  
Zentralanalytik, Nahrungsmittelforschung  
und Entwicklung  
CH-3176 Neuenegg

*R. Daniel*, Station fédérale de recherches en chimie agricole et sur l'hygiène de l'environnement, Liebefeld-Berne

## Reference materials for plant analysis

Ce poster paraîtra sous forme de communication dans un prochain fascicule.