

Project 71314.01

Operationeel maken van methoden ten behoeve van Wettelijke en Dienstverlenende Taken

Projectleider: J. de Jong

Rapport 98.012

maart 1998

## VERGELIJKING VAN DE DUMAS- EN DE KJELDAHL-METHODE BIJ DE STIKSTOFBEPALING IN MENGVOEDERS EN MENGVOEDERGRONDSTOFFEN

J.J.M. Driessen

afdeling:

Medewerkers: A.M.R. Hawiye, A. de Koning, M.W.A.M. Kusters

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 0317-475400

Telefax 0317-417717

Copyright 1998, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)  
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

## VERZENDLIJST

### INTERN:

directeur

programmaleiders

projectleider

auteur/medewerkers

public relations en secretariaat (2x)

bibliotheek

leesplanken

A.E.M. Vermunt

J. Labrijn

### EXTERN:

Foss Electric Benelux (M. van der Haven)

Bureau Registratie Diergeneesmiddelen (dr. J.P. Hoogland)

A.M.R. Hawiye

CLO-"De Schothorst" (ing. H. den Hartigh)

Belastingdienst Douane - Laboratorium (drs. T. Knol)

Rijksontledingslaboratorium Gent (ir. I. van de Gucht)

Rijksontledingslaboratorium Tervuren (ir. K. Haustraete)

Europese Commissie, DG VI-B-II.1 CEMA (F. Verstraete)

Normcommissie Diervoeder 370 10 (ir. R. Zwart (secretaris), H. Keukens (voorzitter))

## ABSTRACT

Vergelijking van de Dumas- en de Kjeldahl-methode bij de stikstofbepaling in mengvoeders en mengvoedergrondstoffen

Comparison of the Dumas and the Kjeldahl method for the determination of nitrogen in feedingstuffs and feed materials (in Dutch)

Report 98.012

March 1998

J.J.M. Driessen

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)  
P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

4 tables, 1 annex, 5 references

Compound feedingstuffs and feed materials were analyzed to compare the Dumas- and Kjeldahl-methods for nitrogen determination. The Dumas-analyses were carried out with the Elementar Macro-N-analyzer which was supplied for a period of about two months by Foss Electric Benelux, while Kjeldahl-analyses were performed with semi-automatic equipment.

The detector response is linear up to 115 mg of nitrogen at least. Taking into consideration that usually test portions of 1 g are analyzed, the Dumas-method thus seems to be sufficiently robust for the determination of protein in a wide variety of feedingstuffs. The Dumas-method yielded on average 0.042-0.081% more nitrogen compared with the Kjeldahl-method, which corresponds to relative values of 1.3-2.5% of protein. Taking into account that both methods have a comparable repeatability of 0.31% of protein, the Dumas-method may be an acceptable alternative for the Kjeldahl-method.

## VOORWOORD

Ten behoeve van dit onderzoek is door Foss Electric Benelux gedurende ca. 2 maanden de stikstof-analysator "Macro-N" ter beschikking gesteld. Voor een deel is gebruik gemaakt van door derden beschikbaar gesteld monstermateriaal. De analyses zijn verricht door Abdi Hawiye, Arie de Koning en Mart Kusters. Allen die op een van bovengenoemde manieren aan dit onderzoek hebben bijgedragen, wil ik langs deze weg bedanken.

J.J.M. Driessen

<b>INHOUD</b>	<b>blz.</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>1</b>
<b>VOORWOORD</b>	<b>2</b>
<b>SAMENVATTING</b>	<b>5</b>
<b>1 INLEIDING</b>	<b>7</b>
<b>2 MATERIAAL EN METHODEN</b>	<b>8</b>
2.1 Materiaal	8
2.2 Methoden	8
2.2.1 Stikstofbepaling volgens het Kjeldahl-principe	8
2.2.2 Stikstofbepaling met de Macro-N-analyzer, op basis van het Dumas-principe	8
<b>3 RESULTATEN EN DISCUSSIE</b>	<b>9</b>
3.1 Onderzoek naar de lineariteit van de detector van de Macro-N-analyzer	9
3.2 Onderzoek naar de herhaalbaarheid en de binnen-lab- reproduceerbaarheid van de Dumas-methode	10
3.2.1 Bepaling van de herhaalbaarheid	10
3.2.2 Bepaling van de binnen-lab-reproduceerbaarheid	11
3.3 Vergelijking van de Dumas-methode en de Kjeldahl-methode	12
3.3.1 Vergelijking van het niveau	13
3.3.2 Vergelijking van de precisie	14
<b>4 CONCLUSIE</b>	<b>14</b>
<b>LITERATUUR</b>	<b>15</b>
<b>BIJLAGE</b>	
A. Uitvoerige procesbeschrijving van de Macro-N-analyzer	

## SAMENVATTING

Ter vergelijking is in mengvoeders en mengvoedergrondstoffen met de Dumas-methode en de Kjeldahl-methode het stikstofgehalte bepaald. De Dumas-analyses zijn verricht met de stikstofanalysator "Macro-N". Gebleken is dat in het meetbereik van ca. 0,6 tot ca. 115 mg stikstof de detector van de Macro-N-analyzer lineair is. Bij een gebruikelijke analyseportie van 1 gram betekent dit, dat diervoeders met eiwitgehalten van 0,5% tot 70% met dezelfde calibratiecurve bepaald kunnen worden. Mede op basis van literatuurgegevens kan hieruit worden geconcludeerd dat de methode ook voor diervoederonderzoek voldoende robuust is. Met de Dumas-methode wordt gemiddeld 0,042 tot 0,081% meer stikstof gevonden dan met de Kjeldahl-methode. Dit komt overeen met 0,27 tot 0,51% eiwit (absoluut) en met 1,3 tot 2,5% eiwit relatief. Er is geen verschil in de precisie van beide methoden; de herhaalbaarheid berekend op basis van duploverschillen ligt op een niveau van 0,050% stikstof, hetgeen overeenkomt met 0,31% eiwit. Deze resultaten zijn in overeenstemming met literatuurdata. Op grond van deze bevindingen kan de Dumas-methode een geschikt alternatief zijn voor de Kjeldahl-methode.

## 1 INLEIDING

Het eiwitgehalte van diervoeders en diervoedergrondstoffen is een belangrijk criterium voor de vaststelling van de kwaliteit van het product. Hetzelfde geldt voor humane voedingsmiddelen, zoals melk en melkproducten. Bij veel meststoffen wordt de kwaliteit onder andere bepaald door het gehalte aan stikstof. Eiwit respectievelijk stikstof bepalen dus voor een belangrijk deel de handelswaarde van deze producten. Ook voor een verantwoorde samenstelling van voederrantsoenen en voor bemestingsplannen is het nodig het eiwit- respectievelijk stikstofgehalte te kennen. Op grond van economische overwegingen is het derhalve belangrijk dat dit gehalte regelmatig wordt gecontroleerd en snel kan worden bepaald.

Voor de bepaling van het eiwitgehalte wordt sinds jaar en dag de algemeen geaccepteerde methode volgens Kjeldahl als referentiemethode beschouwd en toegepast. Hierbij wordt feitelijk het stikstofgehalte gemeten en wordt met behulp van een omrekeningsfactor het eiwitgehalte berekend. Deze methode is met name geschikt voor producten waarin eiwitten nagenoeg de enige stikstofbron zijn. Producten waarin nitraat een belangrijke stikstofbron is, moeten worden onderzocht met een gemodificeerde Kjeldahlmethode, waarbij het nitraat wordt gereduceerd tot ammoniumverbindingen. Bij deze (gemodificeerde) Kjeldahlbepalingen wordt gebruik gemaakt van verschillende chemicaliën, die in meer of mindere mate een belasting betekenen voor het milieu. Daarnaast is de methode nogal tijdrovend.

Sinds enkele jaren vindt een nieuwe bepalingmethode steeds meer toepassing, gebaseerd op het Dumas-principe: verbranding van het analysemateriaal gevolgd door meting van het gevormde stikstof. Verschillende auteurs komen tot de conclusie dat deze methode veel sneller een analysesresultaat levert en veel minder milieutechnische bezwaren kent dan de Kjeldahlmethode. Ellen en Mahulette (1997) hebben bovendien vastgesteld dat de herhaalbaarheid en de juistheid van de Dumas-methode bij melk en melkproducten minstens zo goed zijn als die van de Kjeldahlmetingen. Met de eerste methode wordt echter, relatief gezien, 1 tot 3% meer stikstof gevonden. Ze komen ook tot de conclusie dat de Dumas-methode als referentiemethode geschikt is voor de stikstofbepaling in zuivelproducten. Jakob et.al. (1995) vinden bij hun onderzoek van melk dezelfde waarnemingen voor precisie, maar komen tot ca. 6,7% (rel.) hogere Dumas-stikstofgehalten. Als mogelijke reden voor de systematisch hogere Dumas-N-gehalten wordt in beide gevallen genoemd dat bij de Kjeldahlanalyse nitraat en heterocyclische stikstofverbindingen niet volledig worden bepaald. In internationaal verband is de Dumas-methode reeds geaccepteerd als officiële AOAC-methode voor meststoffen, diervoeders, granen en oliezaden en vlees en vleesproducten alsmede als normvoorschrift voor grond (ISO) en melk en zuivelproducten (DIN).

Om na te gaan of de Dumastechniek een geschikt alternatief is voor de Kjeldahlmethode is het stikstofgehalte van een aantal diervoeders en diervoedergrondstoffen met beide methoden bepaald.

Om een indicatie te krijgen van de nauwkeurigheid van de Dumasbepaling is tevens onderzoek verricht naar de lineariteit van de detector, de herhaalbaarheid en de binnen-lab reproduceerbaarheid. De Kjeldahlmetingen zijn uitgevoerd met de in het RIKILT-DLO beschikbare hulpmiddelen en apparatuur, terwijl de Dumas-analyses zijn verricht met een door de firma Foss Electric Benelux beschikbaar gestelde "Macro-N"-analyzer.

## 2 MATERIAAL EN METHODEN

### 2.1 Materiaal

Tijdens het onderzoek is gebruik gemaakt van mengvoeders en mengvoedergrondstoffen. Om vertrouwd te raken met de Dumas-analyse is in de opstartfase gebruik gemaakt van kunstmelkvoeders.

### 2.2 Methoden

#### 2.2.1 Stikstofbepaling volgens het Kjeldahl-principe

De officiële methode voor de eiwitbepaling in diervoeders is beschreven in Richtlijn 93/28/EEG. De hierna beschreven destructie en destillatie zijn gebaseerd op deze methode. De in dit onderzoek gevolgde titratieprocedure is afgeleid van NEN 5396.

De organische stof van het analysemonster wordt met geconcentreerd zwavelzuur in aanwezigheid van een katalysator (kopersulfaat) en kaliumsulfaat gedestruëerd bij een temperatuur van circa 400 °C. De organisch gebonden stikstof wordt hierdoor omgezet in ammoniumionen. Na toevoeging van natronloog worden deze als ammoniak overgedestilleerd en opgevangen in overmaat boorzuur. Door titratie van het reactiemengsel met verdund zoutzuur wordt het gehalte aan stikstof bepaald.

#### 2.2.2 Stikstofbepaling met de Macro-N-analyzer, op basis van het Dumas-principe

Voorafgaand aan een analyseserie wordt het apparaat gekalibreerd met behulp van zuivere tyrosine, ureum of, zoals in dit onderzoek, asparaginezuur. Zowel voor deze standaard- als voor monsteranalyses geldt de volgende beknopte procesbeschrijving. De analyseportie wordt bij ongeveer 1000 °C gepyroliseerd in aanwezigheid van koperoxide en zuurstof, waarbij de zuurstofdosing is afgestemd op de aard en de hoeveelheid van het monstermateriaal. De meeste gasvormige verbrandingsproducten worden hierdoor geoxideerd. Hierbij ontstaan ondermeer stikstofoxiden, kooldioxide, zwaveldioxide en water. De verbrandingsgassen worden door een stroom van koolzuurgas door de successievelijke systeemcompartimenten geleid. Na verwijdering van zwaveldioxide wordt het gasmengsel door een naverbrandingsbuis gevoerd. In deze buis, die onder andere koperoxide bevat, vindt kwantitatieve



oxidatie van de verbrandingsgassen plaats door het uit het koperoxide vrijkomende zuurstof. Het gasmengsel gaat daarna door een condensator, waardoor waterdamp grotendeels wordt verwijderd. De aanwezige stikstofoxiden in het gasmengsel worden vervolgens door fijnkorrelig koper gereduceerd tot elementaire stikstof. Tevens wordt hierbij de overmaat zuurstof gebonden aan het koper. Resten waterdamp worden daarna kwantitatief verwijderd en vervolgens wordt de stikstof in de koolzuurstroom door een thermische geleidbaarheidsdetector getransporteerd, waarbij de geleidbaarheid van stikstof ten opzichte van die van koolzuurgas wordt gemeten. Het stikstofgehalte is recht-evenredig met het detectorsignaal en wordt geheel automatisch berekend op basis van de eerder verrichte kalibratie.

In bijlage A is een uitvoerige beschrijving van bovengenoemd proces gegeven. Voor een gedetailleerde beschrijving van de bediening van het apparaat wordt verwezen naar de handleiding.

### 3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

Om vertrouwd te raken met de Macro-N-analyzer is een aantal kunstmelkvoeders onderzocht welke in het kader van een wettelijke controle reeds met de officiële (Kjeldahl)methode waren onderzocht. Aan de hand van de resultaten van beide methoden is aansluitend overgegaan op analyses ten behoeve van een statistisch verantwoorde vergelijking. De resultaten voor de kunstmelkvoeders maken derhalve geen deel uit van dit rapport.

#### 3.1 Onderzoek naar de lineariteit van de detector van de Macro-N-analyzer

Dit onderzoek is uitgevoerd met, door de fabrikant aanbevolen, zuiver asparaginezuur, een niet-essentieel aminozuur met een stikstofgehalte van 10,52%. De hoeveelheden asparaginezuur variëren van enkele milligrammen tot circa 1000 mg en zijn in overeenstemming met het door de fabrikant aangegeven meetbereik waarvoor een lineair verband wordt gepretendeerd. De metingen zijn op twee verschillende dagen uitgevoerd. De resultaten zijn opgenomen in onderstaande tabel.

Tabel 1. Detectorsignaal als functie van de hoeveelheid stikstof

Meting 1			Meting 2		
Asp. zuur (mg)	N (mg)	Detectorsignaal (mV)	Asp. zuur (mg)	N (mg)	Detectorsignaal (mV)
6,0	0,63	1801	5,7	0,60	1635
11,1	1,17	3296	11,4	1,20	3160
25,4	2,67	7617	25,5	2,68	7341
51,3	5,40	15475	49,6	5,22	14783
75,6	7,95	22917	75,0	7,89	22601
100,5	10,57	30555	101,2	10,65	30749
261,0	27,46	80870	241,4	25,40	74878
414,3	43,58	129243	592,3	62,31	186260
593,8	62,47	186131	791,6	83,28	251011
793,4	83,47	249220	993,2	104,48	315642
992,4	104,40	312271	1095,2	115,22	323742
1.109,4	116,71	348835			

Regressie-analyse van deze data levert een p-waarde van de F-toets overeenkomend met 0,924. Dit betekent dat er voor de range 0,6 tot 115 mg stikstof geen enkele aanwijzing is voor afwijking van lineariteit. De thermische geleidbaarheidsdetector van de Macro-N-analyzer is derhalve lineair over het gekozen meetgebied. Bij een analyseportie van 1 gram kunnen dus - met dezelfde kalibratiecurve - diervoeders worden gemeten met eiwitgehalten variërend van 0,5% tot zo'n 70%. Veruit de meeste diervoeders en diervoedergrondstoffen vallen in dit bereik. Dit betekent dat, in aanvulling op het resultaat van het onderzoek van Ellen en Mahulette naar de invloed van de grootte van de analyseportie en van de verbrandingstemperatuur op de meetuitkomsten, de Dumas-methode voldoende robuust is voor de stikstof-/eiwitbepaling in diervoeders.

### 3.2 Onderzoek naar de herhaalbaarheid en de binnen-lab-reproduceerbaarheid van de Dumas-methode

#### 3.2.1 Bepaling van de herhaalbaarheid

Voor het vaststellen van de herhaalbaarheid van de Dumasmethode is het stikstofgehalte van één diervoeder 20 maal en één monster grasmeel 13 maal onder herhaalbaarheidsomstandigheden bepaald. De resultaten hiervan zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2. Stikstofgehalte van een monster diervoeder en een monster grasmael, gemeten onder herhaalbaarheidsomstandigheden

Volgnr.	Stikstofgehalte (%)	
	Mengvoeder (MF'94)	Grasmael (GR'94)
1	3,288	2,868
2	3,294	2,866
3	3,277	2,870
4	3,293	2,846
5	3,285	2,849
6	3,302	2,789
7	3,321	2,866
8	3,301	2,857
9	3,295	2,850
10	3,274	2,868
11	3,299	2,831
12	3,273	2,847
13	3,328	2,847
14	3,332	
15	3,299	
16	3,328	
17	3,325	
18	3,305	
19	3,313	
20	3,238	

Om uit bovenstaande waarnemingen de herhaalbaarheid ( $r$ ) van de methode te kunnen berekenen, moet eerst worden aangetoond dat de onderscheidenlijke herhaalbaarheden van de mengvoeder- en grasmaelanalyses onderling niet verschillen. Hiervoor wordt de F-toets gebruikt:

$$F\text{-waarde} = \frac{r_m^2}{r_g^2} = 1,11$$

De kritieke F-waarde<sub>(19,12)</sub> bedraagt circa 2,5 bij tweezijdige toetsing ( $P=0,10$ ).

De gevonden F-waarde is kleiner dan de kritieke F-waarde. Er is derhalve geen significant verschil tussen de herhaalbaarheid van de mengvoedermetingen en die van de grasmaelmetingen.

De herhaalbaarheid van de methode ( $r_m$ ) kan vervolgens worden berekend door "poolen" van varianties:

$$r_M = \sqrt{\frac{(n_m - 1) \times r_m^2 + (n_g - 1) \times r_g^2}{n_m + n_g - 2}}$$

Op basis van deze "gepoolde" berekening blijkt dat de herhaalbaarheid 0,063 % stikstof bedraagt.

### 3.2.2 Bepaling van de binnen-lab-reproduceerbaarheid

Gedurende een aantal opeenvolgende dagen is, na kalibratie van de analyzer, bij het begin van een serie analyses 2 maal een mengvoeder (code MF'94) onderzocht op het gehalte aan stikstof. De gevonden resultaten staan in tabel 3.

Tabel 3. Stikstofgehalte (%) van een mengvoeder, verkregen op verschillende dagen ten behoeve van de berekening van de binnen-lab-reproduceerbaarheid

Dag	Stikstofgehalte (%)	
	I	II
1	3,314	3,305
2	3,250	3,239
3	3,334	3,348
4	3,302	3,320
5	3,269	3,301
6	3,316	3,293
7	3,385	3,336
8	3,331	3,310

Op basis van NEN-ISO 5725 1986 kan de standaardafwijking van de binnen-lab-reproduceerbaarheid worden geschat. Deze bedraagt 0,0372 % stikstof. De binnen-lab-reproduceerbaarheid is een factor 2,8 groter en bedraagt 0,104% stikstof.

### 3.3 Vergelijking van de Dumas-methode en de Kjeldahl-methode

Van 49 diervoeders (vooral varkens- pluimvee- en rundveevoeders) en enkele diervoedergrondstoffen is met beide methoden het stikstofgehalte in tweevoud bepaald. De resultaten hiervan zijn opgenomen in tabel 4.

Tabel 4. Stikstofgehalte (%) van 49 monsters mengvoeder(grondstof), bepaald met de Dumas- en de Kjeldahimethode

RIKILTnr (95/...)	Product	Dumas			Kjeldahl			Verschil Dumas- Kjeldahl
		I	II	Gem.	I	II	Gem.	
10189	Bietenpulp	1,808	1,808	1,8080	1,774	1,768	1,7712	0,0368
10190	Bietenpulp	1,793	1,788	1,7905	1,918	1,904	1,9112	-0,1207
10191	Konijnenvoer	2,650	2,672	2,6610	2,608	2,605	2,6064	0,0546
10192	Konijnenvoer	2,690	2,627	2,6585	2,611	2,611	2,6112	0,0473
10193	Palmpitten	2,276	2,305	2,2905	2,224	2,227	2,2256	0,0649
10194	Palmpitten	2,278	2,303	2,2905	2,253	2,250	2,2512	0,0393
10195	Vismeel	10,577	10,554	1,0566	10,347	10,318	1,0333	0,2327
10196	Vismeel	10,538	10,581	1,0560	10,384	10,381	1,0382	0,1771
12123	Rundveebrok	2,706	2,715	2,7105	2,602	2,636	2,6190	0,0915
12134	Bascuul biva	2,648	2,666	2,6570	2,682	2,686	2,6830	-0,0260
12255	Zeugenbrok	2,417	2,409	2,4130	2,405	2,423	2,4140	-0,0010
12256	Rundveemeel	2,920	2,922	2,9210	2,941	2,916	2,9285	-0,0075
12257	Zeugenbrok	2,516	2,505	2,5105	2,512	2,498	2,5050	0,0055
12797	Varkensvoer	3,109	3,120	3,1145	3,002	3,027	3,0145	0,1000
12798	Varkensvoer	3,128	3,103	3,1155	3,039	3,002	3,0205	0,0950
12799	Varkensvoer	3,093	3,103	3,0980	3,037	2,981	3,0090	0,0890
12800	Varkensvoer	2,754	2,773	2,7635	2,709	2,662	2,6855	0,0780
12801	Varkensvoer	2,729	2,763	2,7460	2,665	2,672	2,6685	0,0775
12802	Varkensvoer	2,847	2,810	2,8285	2,809	2,800	2,8045	0,0240
12803	Varkensvoer	2,864	2,885	2,8745	2,783	2,775	2,7790	0,0955
12804	Varkensvoer	2,739	2,743	2,7410	2,682	2,687	2,6845	0,0565
12805	Varkensvoer	2,790	2,788	2,7890	2,688	2,671	2,6795	0,1095
12806	Varkensvoer	2,787	2,767	2,7770	2,717	2,687	2,7020	0,0750
12807	Pluimveevoeder	3,630	3,636	3,6330	3,516	3,496	3,5060	0,1270
12808	Pluimveevoeder	3,568	3,598	3,5830	3,513	3,497	3,5050	0,0780
12809	Pluimveevoeder	3,640	3,700	3,6700	3,507	3,527	3,5170	0,1530
12810	Pluimveevoeder	3,603	3,616	3,6095	3,427	3,493	3,4600	0,1485
12812	Pluimveevoeder	3,419	3,410	3,4145	3,174	3,216	3,1950	0,2195
12813	Pluimveevoeder	3,447	3,400	3,4235	3,198	3,251	3,2245	0,1990
12814	Pluimveevoeder	3,308	3,326	3,3170	3,365	3,372	3,3685	-0,0515
12816	Pluimveevoeder	3,428	3,385	3,4065	3,327	3,331	3,3290	0,0775
12818	Rundveevoer	3,184	3,146	3,1650	3,123	3,167	3,1450	0,0200
12819	Rundveevoer	3,030	2,999	3,0145	2,971	2,966	2,9685	0,0460
12820	Rundveevoer	3,182	3,209	3,1955	3,140	3,177	3,1585	0,0370
12822	Rundveevoer	3,244	3,224	3,2340	3,161	3,153	3,1570	0,0770
12824	Rundveevoer	3,240	3,182	3,2110	3,145	3,120	3,1325	0,0785
12825	Rundveevoer	3,215	3,227	3,2210	3,094	3,149	3,1215	0,0995
13111	Topmelk	2,711	2,716	2,7135	2,691	2,685	2,6880	0,0255
13112	Rundveevoer	3,854	3,852	3,8530	3,784	3,768	3,7760	0,0770
13940	Biggenstartkorrel	2,928	2,945	2,9365	2,959	2,964	2,9615	-0,0250
13941	Vleesvarkensbrok	2,672	2,660	2,6660	2,674	2,665	2,6695	-0,0035
13942	Startvoer	2,669	2,670	2,6695	2,691	2,683	2,6870	-0,0175
13943	Stierenbrok	3,957	3,986	3,9715	3,972	3,964	3,9680	0,0035
14092	Canin pupbrok	5,927	5,946	5,9365	5,857	5,873	5,8650	0,0715
14093	Canin pupbrok	5,844	5,855	5,8495	5,777	5,767	5,7720	0,0775
14212	Biggenmeel	2,798	2,771	2,7845	2,692	2,690	2,6910	0,0935
14213	Konijnenvoer	2,887	2,884	2,8855	2,872	2,899	2,8855	0,0000
14214	Kalkoenafmest- korrel	2,889	2,885	2,8870	2,854	2,857	2,8555	0,0315
14215	Biva	2,541	2,540	2,5405	2,538	2,549	2,5435	-0,0030

### 3.3.1 Vergelijking van het niveau

Met de "Student-t"-toets kan uit de resultaten van tabel 4 worden berekend dat met de Dumasmethode significant hogere stikstofgehalten worden gevonden dan met de Kjeldahlmethode. Bij tweezijdige toetsing blijkt namelijk dat de kritieke t-waarde ( $p < 0,01$ ), te weten ca. 2,7, veel kleiner is dan het resultaat van de Student-t-toets:

$$t = \frac{\bar{d} \times \sqrt{n}}{s_d} = 6,38$$

Uit tabel 4 kan verder worden afgeleid dat met de Dumasmethode gemiddeld 0,062% stikstof meer wordt gevonden dan met de Kjeldahlmethode. De standaardfout (s.e.m.) van dit gemiddelde bedraagt 0,0097%. Dit betekent dat met de Dumasmethode gemiddeld tussen 0,042% en 0,081% meer stikstof wordt gevonden dan met de Kjeldahlmethode, overeenkomend met 0,27% en 0,51% eiwit. Relatief gezien zal het resultaat van de Dumas-analyse gemiddeld 1,3 tot 2,5% (eiwit) hoger liggen dan dat van de Kjeldahl-methode.

Hoewel dit in dit onderzoek niet is nagegaan, zijn de lagere Kjeldahl-N-gehalten vermoedelijk het gevolg van een onvolledige omzetting van nitraat tijdens de destructie.

### 3.3.2 Vergelijking van de precisie

Uit de duploverschillen van de data van tabel 4 kan voor beide methoden de precisie (standaardafwijking) worden berekend. Met de F-toets kan vervolgens worden nagegaan of beide waarden verschillend zijn:

$$F\text{-waarde} = \frac{[\sum (\bar{d}_p)^2] \times n_k}{[\sum (\bar{d}_k)^2] \times n_p} = 1,04$$

Deze waarde is veel kleiner dan de kritieke F-waarde ( $P=0,10$ ; tweezijdige toetsing) van 1,65. De precisie van beide methoden is dus niet verschillend. De op basis van duploverschillen berekende herhaalbaarheid van beide methoden ligt op een niveau van 0,050% stikstof (0,31% eiwit).

## 4 CONCLUSIE

In het meetbereik van ca. 0,6 tot ca. 115 mg stikstof is de thermische geleidbaarheidsdetector van de Macro-N analyzer lineair. Bij een gebruikelijke analyseportie van 1 gram diervoeder betekent dit, dat diervoeders met eiwitgehalten van 0,5% tot 70% met dezelfde kalibratiecurve bepaald kunnen worden. Mede op basis van literatuurgegevens is de Dumas-methode voor het onderzoek van diervoeders dus voldoende robuust. Met de Dumas-methode wordt, absoluut gezien, gemiddeld 0,042 tot 0,081% meer stikstof gevonden dan met de Kjeldahl-methode, overeenkomend met 1,3 tot 2,5% eiwit relatief. Er is

geen verschil in de precisie van beide methoden; de herhaalbaarheid berekend op basis van duploverschillen ligt op een niveau van 0,050% stikstof, overeenkomend met 0,31% eiwit. Zowel de resultaten met betrekking tot het niveau als de spreiding zijn in overeenstemming met literatuurbedata. Op grond van deze bevindingen kan de Dumas-methode een geschikt alternatief zijn voor de Kjeldahl-methode.

## LITERATUUR

Ellen, G. en G.G. Mahulette

Stikstofbepaling in zuivelproducten: Dumas evenaart Kjeldahl

VMT (1997), nr. 3

Jakob, Ernst, Claudia Sievert, Silvia Sommer, Zdenko Puhar

Automatisierte Bestimmung des Gesamtstickstoffs in Milch nach der Dumas-Methode

Z. Lebensm. Unters. Forsch. (1995) 200: 239-243

Bijlage bij Richtlijn 93/28/EEG, Publicatieblad Nr. L 179 van 22 juli 1993: Bepaling van ruw eiwit

NEN 5396, 1e druk november 1975: Bepaling van het gehalte aan ruw eiwit in granen, peulvruchten en daarvan afgeleide producten, bestemd voor menselijke consumptie

Elementar Analysensysteme GmbH: Operating Instructions, Nitrogen Analyzer Macro-N

## BIJLAGE A. Uitvoerige procesbeschrijving van de Macro-N-analyzer.

Een deel van het gemalen en gehomogeniseerde monster wordt overgebracht in een, voor hergebruik geschikt, cupje. Het gewicht van de analyseportie wordt met behulp van een aan de balans gekoppelde interface "on-line" ingelezen of met de hand via het toetsenbord in de computer ingevoerd. De specifieke analyseparameters moeten worden ingesteld, zoals oventemperatuur, verbrandingstijd en zuurstofdoserings.

Bij het begin van de analyse zorgen twee kleppen voor drukvermindering in het systeem om te voorkomen dat fijnverdeeld monstermateriaal ontsnapt als de analyzer wordt geopend. Het cupje wordt in de verbrandingsbuis gebracht. Om te voorkomen dat tijdens de verplaatsing van het cupje een grote hoeveelheid atmosferische stikstof het systeem binnendringt, wordt door middel van kleppen een koolzuurstroom door de verbrandingsbuis geleid. Ondanks een optimale doorstroming met koolzuurgas, zullen steeds bij het "laden" van een monster enkele milliliters atmosferische stikstof in de verbrandingsbuis terechtkomen. Deze stikstof wordt door de detector (TCD) gemeten en veroorzaakt direct na het "laden" van het monster een zogenaamde laadpiek. De integraal van deze piek wordt echter niet in de meetpiek van het monster betrokken. De positie van het cupje in de verbrandingsbuis is zo gekozen dat het monster eerst op een temperatuur van 100°C tot 400°C wordt gebracht. Deze initiële temperatuur wordt door een "timer"-gestuurde ventilator geregeld. De benodigde tijd bedraagt maximaal 5 minuten.

Voor de verbranding van het monster is het nodig dat de dynamische oven langzaam van de top van de verbrandingsbuis naar de positie van het cupje zakt, zodat de oven het monster volledig omsluit. Als de dynamische oven zijn laagste positie heeft bereikt, wordt zuurstof toegevoegd aan het draaggas (kooldioxide). Het monster wordt verast en tenslotte aan het eind van de verbrandingsfase door toevoeging van zuivere zuurstof volledig gepyroliseerd.

Het gasmengsel dat in de verbrandingsbuis is gevormd, zal achtereenvolgens de SO<sub>2</sub>-absorptiebuis (loodchromaat), de naverbrandingsbuis en de reductiebuis passeren. In de naverbrandingsbuis worden de gasvormige verbrandingsproducten door koperoxide kwantitatief geoxideerd. Een prop zilverwol in de "outlet" van de naverbrandingsbuis en in de "inlet" van de reductiebuis absorbeert halogeniden en waterstofhaliden, om te voorkomen dat deze verbindingen de analyseresultaten beïnvloeden. Ter verwijdering van de grootste hoeveelheid waterdamp is achter de naverbrandingsbuis een condensator geplaatst. Na deze drogingsmodule passeert het gasmengsel een zuurstofsensor waarmee de optimale zuurstofdoserings gestuurd wordt, zodat zuurstoffresten sterk beperkt zullen worden. In de reductiebuis worden stikstofoxiden kwantitatief omgezet in moleculaire stikstof, terwijl de overmaat zuurstof door koper wordt geabsorbeerd. Als het gasmengsel de reductiebuis tenslotte verlaat, bestaat het nog alleen uit draaggas, stikstof en waterdampresten. De laatste worden in een tweede drogingsmodule kwantitatief verwijderd. Deze module bestaat uit twee in serie geplaatste buizen die gevuld zijn met fosforpentoxide. Het CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>-gasmengsel passeert eerst een flowregelaar en daarna de meetcel van de detector.

De TCD wordt gekalibreerd met zuivere asparaginezuur. Het signaal van de monsteranalyse wordt via lineaire interpolatie omgerekend in mg stikstof. Aan de hand van het gewicht van de analyseportie wordt hieruit vervolgens automatisch het gehalte aan stikstof in het monster afgeleid.