

Lab Zuivel            1982-02-23  
VERSLAG 82.16       Pr.nr. 505.6000

Onderwerp: Bepaling van het fosfor-  
              gehalte in kaas.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofd (3x), direktie V.K.A., afd.  
                  Zuivel (3x), afd. Normalisatie (Humme), Projektbeheer,  
                  projektleider (Oortwijn).

Lab. Zuivel

1982-02-23

VERSLAG 82.16

Pr.nr. 505.6000

Projekt: Ontwikkeling en verbetering van onderzoekmethoden voor melk-  
en zuivelprodukten

Onderwerp: Bepaling van het fosforgehalte in kaas.

Bijlagen: Intern Voorschrift

---

Doel:

Het verkorten van de destructietijd.

Samenvatting:

De fosforbepaling zoals die op de Auto-Analyzer wordt uitgevoerd (Technikon methode 329-74 W/B en destructie TA 4-0323-11) wijkt enigszins af van NEN 3766. Zo wordt er niet met waterstofperoxide en zwavelzuur gedestruëerd maar met kwikoxide en zwavelzuur, zoals gebruikelijk bij de Kjeldahl stikstofbepaling (NEN 3198). Daar deze laatste destructie veel minder tijd vergt, is bekeken of met de handmethode (NEN 3766) ook niet de verkorte destructie aangehouden kan worden.

Conclusie:

Kwikoxyde stoort bij de kleuring. Door toevoegen van chloride-ionen wordt de storing weggenomen. De gevonden gehalten liggen ongeveer 3% hoger, wat gecorrigeerd wordt door een faktor.

Afwijkingen dienen bevestigd te worden met de referentiemethode.

---

Verantwoordelijk: ir H. Oortwijn *HO*

Medewerker/samensteller: D. Venema *DV*

Projectleider: H. Oortwijn

Inleiding:

Monsters smeltkaas van het World Food Program moeten binnen 8 dagen geanalyseerd worden. Alleen al de fosforbepaling volgens NEN 3766 vraagt vanwege de langdurige destructie 2,5-3 dagen. Door de kwikoxide-destructie (volgens Kjeldahl) toe te passen kunnen 2 dagen bespaard worden.

Resultaten:

Na de kwikoxidestructie geeft de kleuring volgens NEN 3766 geen goed resultaat.

Tabel 1 De waarden zijn het gemiddelde van een duplobepaling.

Monster	% fosfor		verschil
	peroxidestructie	kwikoxidestructie	
26811	0,98	0,75	-0,23
26816	1,03	0,72	-0,31
26911	0,89	0,68	-0,21
26912	0,90	0,58	-0,32
26913	0,88	0,82	-0,06
28130	1,04	0,73	-0,31

Op een aanwijzing van de firma Technikon werden chloride-ionen aan het kleurreagens toegevoegd om de kwik-ionen te binden. Eindconcentratie 1% NaCl (net als bij de Auto-Analyzer methode).

Monsternummer	% fosfor peroxide destructie	% fosfor kwikoxide destructie	verschil
RZM 1300	1,09	1,08	-0,01
31744	0,96	1,00	+0,04
31745	0,93	0,98	+0,05
31746	0,93	1,01	+0,08
31747	0,94	0,96	+0,02
31748	0,92	0,95	+0,03
31749	0,94	1,00	+0,06
31750	0,92	0,92	0
10243	1,03	1,02	-0,01
10244	1,05	1,06	+0,01
10245	1,22	1,22	0
10246	1,09	1,12	+0,03
10247	1,10	1,08	-0,02
10248	0,92	0,95	+0,03
10249	1,28	1,42	+0,14
10250	1,23	1,22	-0,01
10252	1,16	1,20	+0,04
10164	1,14	1,17	+0,03
10165	1,07	1,12	+0,05
10166	1,08	1,10	+0,02
11090	1,23	1,24	+0,01
11091	1,17	1,19	+0,02
11092	1,21	1,25	+0,04
11093	1,16	1,17	+0,01
11094	1,17	1,21	+0,04
gemiddeld	1,078	1,106	+0,028 = 2,6%
faktor	76,70	77,51	
S (verschil)	= 0,028		
S (gem. verschil)	= 0,0067		
t	= 4,2		
95% grenzen	= + 0,014 tot + 0,042		

Ijklijn: de extinktiewaardes zijn het gemiddelde van een duplobepaling.

P	kwikoxidedestructie	peroxidedestructie
	ext.	ext.
10 µg	0,136	0,1325
	0,1385	
20 µg	0,265	0,261
	0,265	0,2745
30 µg	0,3915	0,3995
	0,395	0,399
50 µg	0,650	0,663
	0,657	0,6645
100 µg		1,260
faktor	76,70	77,51
gecorrigeerd voor systematisch verschil	75,10	

$$\text{Berekening } \% P = \frac{\text{Ext.} \times \text{faktor}}{100 \times \text{inweeg}} = \frac{\mu\text{g ijklijn}}{100 \times \text{inweeg}}$$

Reproduceerbaarheid: 10x hetzelfde monster ingewogen

	% P
	1,08
	1,08
	1,07
	1,07
	1,11
	1,10
	1,09
	1,11
	1,04
	<u>1,09</u>
gemiddeld	1,084

$$S = 0,021$$

$$V_c = 2\%$$

$$\text{herhaalbaarheid} = 2\sqrt{2}S = 2\sqrt{2} \times 0,021 = 0,06\%$$

dit is gelijk aan NEN 3766.

Discussie:

Bij de kwikoxidedestructie worden iets hogere gehalten gevonden (gem. 2,6%). Op de oorzaak hiervan is verder niet ingegaan, daar het in de bedoeling ligt in de nabije toekomst bij de Kjeldahl-bepaling kwikoxide als katalysator te vervangen door kopersulfaat. Besloten is daarom tot een correctiefactor voor de systematische fout. Afwijkingen dienen bevestigd te worden met de referentiemethode.

KAAS - Bepaling van het fosforgehalte (methode met macro kwikoxide-  
destructie)

Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the  
phosphorus content

---

1 Onderwerp en toepassingsgebied

Dit voorschrift beschrijft een methode voor de bepaling van het fosforgehalte van kaas, smeltkas en weikaas.

2 Definitie

Fosforgehalte: het gehalte aan bestanddelen, bepaald volgens de beschreven werkwijze en uitgedrukt in massaprocenten fosfor.

3 Beginsel

Een gewogen hoeveelheid van het monster wordt met behulp van geconcentreerd zwavelzuur en kwikoxide gedeutereerd.

Aan de heldere oplossing wordt natriummolybdaat en hydrazinesulfaat toegevoegd.

Bij aanwezigheid van fosfaat wordt molybdeenblauw gevormd; de concentratie hiervan wordt fotometrisch bepaald.

4 Reagentia en hulpstoffen

4.1 Geconcentreerd zwavelzuur 1,84 g/ml.

4.2 Kwikoxidetabletten bevattende 1,5 g  $K_2SO_4$  en 0,07 g HgO per tablet.

4.3 Natriummolybdaatoplossing

Los 12,5 g natriummolybdaat ( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ) op in zwavelzuur 10 N en vul hiermee aan tot 500 ml.

#### 4.4 Hydrazinesulfaatoplossing

Los 0,30 g hydrazinesulfaat ( $\text{H}_2\text{NNH}_2\text{H}_2\text{SO}_4$ ) op in water en vul aan tot 200 ml.

#### 4.5 Natriumchlorideoplossing

Los 100 g natriumchloride ( $\text{NaCl}$ ) op in water en vul aan tot 1 liter.

#### 4.6 Molybdaat-hydrazinereagens

Meng onmiddellijk voor het gebruik 125 ml van de molybdaatoplossing met 50 ml van de hydrazinesulfaatoplossing en 250 ml van de natriumchlorideoplossing. Vul met water aan tot 500 ml.

#### Opmerking

Gebruik slechts vers bereid molybdaat-hydrazinesulfaatreagens.

#### 4.7 Standaardoplossing van kaliumfosfaat (100 $\mu\text{g}$ P/ml)

Droog een hoeveelheid kaliumdiwaterstoffosfaat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) gedurende ten minste 48 uur in een exsiccator boven geconcentreerd zwavelzuur of een ander geschikt droogmiddel. Los 0,4394 g ervan op in water en vul aan tot 1000 ml.

#### 4.8 Glaskralen.

### 5 Toestellen, glaswerk en hulpmiddelen

Gebruik bij reiniging van het glaswerk geen fosfaathoudende wasmiddelen.

5.1 Balans, waarop tot op 1 mg kan worden gewogen.

5.2 Elektrische fotometer, geschikt voor het meten bij een golflengte van 820 nm, met bijbehorende cuvetten.

5.3 Destructiebuizen van 250 ml.

5.4 Verhittingsinrichting, waardoor de destructiekolven zodanig kunnen worden verhit dat de verhittingsbron slechts in aanraking komt met het deel van de wand van de kolf beneden het vloeistofoppervlak.



5.5 Kokend-waterbad.

5.6 Maatkolven van 100 en 200 ml, fosfaatvrij.

5.7 Volpipetten van 20, 10, 5, 3, 2 en 1 ml.

5.8 Maatcilinder van 5 ml.

## 8 Werkwijze

8.1 Breng ca. 0,5 g van het analysemonster, gewogen tot op 1 mg, in een destructiebuis. Voeg enige glaskralen en 5 kwikoxidetabletten toe en ca. 15 ml zwavelzuur geconcentreerd.

8.2 Verwarm de destructiebuis voorzichtig op de verhittingsinrichting tot het schuimen ophoudt. Verwarm bij 360°C tot 1 uur nadat de oplossing helder en kleurloos is. Meng tijdens het verwarmen de inhoud van de buis van tijd tot tijd door deze te zwenken. Vermijd plaatselijke oververhitting.

8.3 Laat de buis afkoelen en breng het mengsel met water over in een maatkolf van 200 ml. Vul aan en meng.

Opmerking: Om uitkristalliseren van kaliumsulfaat te voorkomen kan na ca. 10 minuten afkoelen voorzichtig ca. 70 ml water bij het mengsel gebracht worden.

8.4 Pipetteer 1 ml van deze oplossing in een maatkolf van 100 ml. Verdun met ca. 25 ml water. Voeg 20 ml molybdaat-hydrazinesulfaat-reagens (4.6) met natriumchloride toe. Vul aan met water en meng.

8.5 Plaats de kolf in het kokend-waterbad. Laat deze gedurende 15 minuten hierin staan en koel vervolgens in koud water af tot kamertemperatuur.

8.6 Verricht een blancobepaling zonder monster.

8.7 Meet de extinctie van de in 8.6 verkregen oplossing binnen een uur tegen de blanco bij een golflengte van 820 nm.

## 9 IJkgrafiek

9.1 Verdun 10 ml van de standaardoplossing van kaliumfosfaat met water in een maatkolf tot 100 ml.

9.2 Bereid een serie oplossingen met stijgende concentratie aan fosfaation door in vijf maatkolven van 50 ml resp. 0 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml en 5 ml van de verdunde standaardoplossing (9.1) te brengen. Hierdoor wordt een reeks oplossingen verkregen die resp. 0 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg en 50 µg fosfor bevatten.

9.3 Vul de inhoud van de vijf maatkolven aan met water tot ca. 25 ml. Voeg 20 ml van het molybdaat-hydrazinesulfaatreagens toe, vul aan met water en meng. Handel verder als omschreven onder 8.6.

9.4 Meet de extinctie van de reeksleden binnen een uur tegen het eerste reekslid (zonder fosfaat) bij een golflengte van 820 nm.

9.5 Zet in een grafiek de extincties van de reeksleden uit tegen de toegevoegde hoeveelheid fosfor, in µg, zoals vermeld in 9.2.

Trek door deze punten de statistisch juiste rechte.

## 10 Berekening

10.1 Bereken uit de volgens 8.8 gemeten extinctie met behulp van de ijkgrafiek, dan wel met behulp van de daaruit berekende factor, de hoeveelheid fosfor, in µg.

10.2 Bereken het fosforgehalte, in % (m/m), met behulp van de formule

$$\frac{m}{100 m_0}$$

waarin:

m is de hoeveelheid fosfor, berekend volgens 10.1, in µg;

m<sub>0</sub> is de inweeg, in g.

Rond de uitkomst af tot op 0,01%.

11 Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de uitkomsten van een bepaling in duplo, gelijktijdig of kort na elkaar door dezelfde persoon verkregen, mag niet groter zijn dan 0,06%.

12 Opmerking

Wanneer het fosforgehalte van het monster bepaald volgens dit Intern Analysevoorschrift, niet blijkt te voldoen aan de eisen, bepaal dan het fosforgehalte volgens NEN 3766 (methode met peroxidestructie).