

Metodenavn: Kjeldahl-N
BIOVIT-nr.: Arb1040

1. Innledning/hensikt

Kjeldahl-metoden benyttes til å bestemme den kvantitative mengden av nitrogen (NH_4^+) i en prøve. Den ble opprinnelig utviklet i 1883 av den danske kjemikeren Johan Kjeldahl for å bestemme proteininnholdet i korn.

Metoden er en internasjonalt anerkjent referansemetode for bestemmelse av proteininnholdet i fôr. Den kan benyttes til nesten alle prøvetyper som næringsmidler, råvarer, vann, slam, kraftfôr, grovfôr, fiskefôr, korn og kunstgjødsel. Metoden går ut på å dekomponere aminosyrene i proteinet ved hjelp av høy temperatur, sterk syre (konsentrert svovelsyre) og en katalysator (kobbersulfat).

Det er viktig å være klar over at Kjeldahl-metoden, ikke klarer å måle det totale innholdet av nitrogen i organiske prøver. Nitrogenatomer i oksidert nitrogen (NO_x) og nitrogenatomer i heterosykliske forbindelser (sykliske organiske forbindelser som inneholder minst et annet atom enn karbon i ringkjeden) blir ikke bestemt.

2. Reagenser

Kjeltebs (3.5 g K_2SO_4 + 0.4 g CuSO_4).
Konsentrert svovelsyre, H_2SO_4 (> 95%)
Borsyre med metylrødt og bromcreosolgrønn
Natriumhydroksid, NaOH (35 %).
Saltsyre (0,2 M)
RO-vann

3. Risikovurdering

Svovelsyre tilføres ved bruk av en manuell pumpe som hele tiden står på kanna. Stempelet dras opp (er stilt inn på 15 mL), trykkes sakte ned mens slangen holdes inn mot glassveggen til prøverøret (for å tilføre den konsentrerte svovelsyren ekstra forsiktig). Etter tilsetting av svovelsyre skal slangen ligge høyere enn væsknivået i svovelsyrebeholderen slik at det ikke drypper svovelsyre i avtrekksskapet.

Løft av dryppebrettet på kokeblokka **FØR** prøvene settes på. Dette **MÅ** gjøres slik at svovelsyregassen trekkes ut av avtrekket.

NB! Bruk vernebriller, tjukke syrehansker og labfrakk! **NB!**

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet Michel Brunes Berg	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 18.10.2011	Revisjon 06.2018	Erstatter 18.10.2011	Dokumentnavn Arb 1040 Kjeldahl-N	Side 1/3

4. Utstyr

Analysevekt (0,0001g)
 Kokeblokk (Kjeltec 2520 Auto Digester, Tecator)
 Kjeltec Auto TM 8400
 Kjeldahl blokker m/Kjeldahlrør.
 Veieskip

5. Prøvemateriale

Det veies inn ca. 0,3 - 1,0 g prøve avhengig av proteininnholdet (se tabell). Tørrprøver veies i veieskip og overføres til Kjeldahl-rør, mens råprøver veies direkte i rørene.

Vekt prøve (g)	Innhold av protein (%)
0,3	>50
0,5	25-50
1,0	3-25

Blank prøve går gjennom samme prosedyre som prøvene.

6. Arbeidsbeskrivelse

1. Skru på blokk (program Protein 3001). Før Scrubber slås på bytt vann i vannkolben. (springvann). Sjekk fargen på lutblandingen, skal være himmelblå.
Skr på Scrubber.
2. Skru på Kjeltec. (Den kjører selv-test ca 3 min.)
Sjekk reagenser (lut, borsyre, saltsyre, vann.)
3. Tørrprøver veies i veieskip og overføres til Kjeldahl-rør. Råprøver veies på vekt C, direkte i Kjeldahl-rør.
4. Sjekk at vekta har riktig program for innveeing av Kjeldahl-N.
Trykk application, system, peripherals.
Printer skal stå på OFF, Host skal stå på RS232, OK-exit.
Inn på launch Compass på PC, varsel kommer opp, trykk YES.
Log inn: Username: Admin
Pin-code: 1234 OK.
Trykk new batch ikonet (øverst til venstre). Skriv inn blokk nr på batch name. Det skal stå kjeldahl på Analyse type. Trykk på 20rack 250 ml på Rack name.
Trykk på samples øverst. Rør 1 står alltid som ml blank, trykk OK for antall blanker vi vil ha. Hvis vi skal ga 3 blanker, trykk OK tre ganger og gjør den siste blanken til prøve (rør 4). Trykk på Show details, sample type: gjør om blank til sample, result type: gjør om ml til mg N/g.
Skriv inn ID på prøven: ID eks: Rekvisisjonsnummer 36-1 osv.
Sett pekeren i feltet ved siden av Get, når vekta er stabil trykk Get. Sjekk at vekta har gått inn. Programmet går automatisk til neste rør, skriv inn neste ID.
Er det ikke full blokk, husk å trykke delete sample på siste prøve som kommer opp.
Trykk Save, trykk Send batches.

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet Michel Brunes Berg	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 18.10.2011	Revisjon 06.2018	Erstatter 18.10.2011	Dokumentnavn Arb 1040 Kjeldahl-N	Side 2/3

5. Tilsett 2 stk. Kjeltabs til prøvene, inkl. de blanke prøvene. Kjeltabs skal ikke tilsettes de tomme rørene. Tilsett forsiktig 15 mL konsentrert H_2SO_4 i rørene.
6. Når blokka er 420 grader, heng blokka på heisen, ta av dryppebrettet, trykk Start.

Kokes i 1 time, rørene avkjøles i 15 min. over koke-enheten før den taes av. Avkjøl prøvene i 20 min.
7. Sett på dryppebrettet på Kjeltac Digester og skru av scrubber og kokeblokka.
8. Prøvene er nå klare for analyse av nitrogen ved Kjeltac TM 8400.

Analyse på Kjeltac TM 8400

9. Trykk Assign, trykk Wing out, sett inn blokka (sjekk at den sitter godt, trykk den godt ned).
Ligger det flere blokker på displayet, trykk på blokka som skal kjøres.
Trykk Assign nederst til høyre.
Trykk Analyse på displayet, trykk Start (rød pil nederst til høyre).
Når blokka er ferdig. Gå inn på PC og overfør resultater.
Trykk: get all files for selected instrument,
Trykk: OK.

7. Rapportering og beregning av analyseresultatet

Resultat oppgis som mg N/g prøve, men resultatene sendes ut til oppdragsgiver som g N/kg prøve.

$$mg\ N/g\ prøve = g\ N/kg/kg\ prøve$$

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet Michel Brunes Berg	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 18.10.2011	Revisjon 06.2018	Erstatter 18.10.2011	Dokumentnavn Arb 1040 Kjeldahl-N	Side 3/3