

## Versuch: Bestimmung von Gesamtstickstoff- und Proteingehalt in Milch

### Vorbemerkung

Protein ist ein Hauptbestandteil von Lebensmitteln, seine Bestimmung muss daher in nahezu allen Nahrungsmitteln durchführbar sein. Eine direkte Proteinbestimmung ist dabei zu fehlerhaft (z.B. gravimetrisch) oder zu aufwendig (z.B. Aminosäureanalyse). Deshalb wird das Lebensmittel mit einer starken Säure und einem Katalysator (Kjeldahl-Aufschluss) aufgeschlossen, der im Protein gebundene Ammoniumstickstoff aus der organischen Matrix freigesetzt und als Salz der verwendeten Säure gebunden. Es wird also der im Protein gebundene Stickstoff, bzw. Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ), als charakteristischer Bestandteil der Proteine quantifiziert. Dazu wird die Probe nach dem Aufschluss mit einem Überschuss an Natronlauge versetzt und der nun aus seinen Salzen freigesetzte Ammoniak in eine Borsäurevorlage destilliert, aus der er titriert werden kann.

Um nun auf das Protein rückrechnen zu können bedarf es Umrechnungsfaktoren, die vom Stickstoffgehalt der Einzelproteine abhängen (Aminosäurezusammensetzung und -anzahl) und die sich von Lebensmittel zu Lebensmittel unterscheiden können. Ein Standardprotein enthält 16 % Stickstoff, so dass der Faktor 6,25 immer dann benutzt wird, wenn es keine anderen Vorgaben (z.B. aus der Literatur) gibt. Für Milch und Milchprodukte wird ein Faktor von 6,38 herangezogen.

**Vorsicht:** Bei diesem Versuch ist das Tragen von Schutzausrüstung (Schutzbrille, Kittel, Handschuhe) unabdingbar!

### Bestimmung des Proteingehalts:

Der Stickstoffgehalt N einer Probe errechnet sich nach:

$$N = \frac{(a - b) \cdot 1,4008}{10 \cdot E} \text{ g/ 100 g}$$

a: Verbrauch Maßlösung (0,1 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) Hauptversuch in ml  
 b: Verbrauch Maßlösung (0,1 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) Blindversuch in ml  
 1,4008: 1 ml Maßlösung entspricht 1,4008 mg Stickstoff  
 E: Einwaage in g

Der Proteingehalt P der Probe errechnet sich nach:

$$P = N \cdot F \text{ g/ 100 g}$$

N: Stickstoffgehalt in g/ 100 g  
 F: Umrechnungsfaktor 6,38

Als Maßlösung wird 0,1 M HCl oder 0,05 M (0,1 N)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  eingesetzt.

## Praktikumsaufgabe

Für zwei Milchproben sind Gesamtstickstoff und Proteingehalt zu bestimmen. Außerdem soll durch Untersuchung von Ammoniumsulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) die Wiederfindung ermittelt werden. Diese ergibt sich aus dem Verhältnis von ermitteltem Stickstoffgehalt des Ammoniumsulfates zum theoretisch erwarteten Gehalt.

### Durchführung :

Für die Bestimmung des Gesamtstickstoffs werden je 2 x 3 g Milch sowie 2 x 3 g Wasser als Blindwert auf +/- 1 mg genau in kleine Bechergläser eingewogen und anschließend mit wenig dest. Wasser in Makro-Kjeldahlkolben übergespült.

Für die Wiederfindung werden 3 x 20 mg Ammoniumsulfat in 100 ml Maßkolben eingewogen und mit Wasser bis zur Markierung aufgefüllt. Der Aufschluss entfällt.

Zu allen Kjeldahlkolben werden nun je eine Spatelspitze Katalysatormischung und 15 ml konzentrierte  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gegeben. Der Aufschluss erfolgt im Aufschlussblock (beim Assistenten rückfragen). Sobald die Ansätze farblos sind und der Aufschluss damit vollständig ist, werden die Kolben zunächst aus dem Aufschlussgestell genommen und abgekühlt. Nach Zugabe von 15 ml dest. Wasser (Vorsicht: Spritzgefahr und Hitzeentwicklung!) werden die Aufschlusslösungen mit Hilfe eines Trichters vorsichtig in 100 ml Maßkolben überführt. Kjeldahlkolben und Trichter werden mit Wasser nachgespült (Wärmeentwicklung!). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Zur Destillation werden je Probe 20 ml in einen Aufschlusskolben pipettiert (Saugball verwenden!) und 3-4 Tropfen Tashiro-Indikator zugegeben. Als Vorlage dienen Erlenmeyerkolben, die mit 20 ml Wasser und ebenfalls 3-4 Tropfen Tashiro-Indikator gefüllt werden. Aufschluss- und Erlenmeyerkolben werden in die Destillationsanlage eingespannt und die Destillation erfolgt nach Bedienungsanleitung der Anlage (Natronlauge und Borsäure werden automatisch zu dosiert; Methode: Casein Reflab). Nach Beendigung der Destillation wird der Inhalt des Erlenmeyerkolbens mit 0,1 N Schwefelsäure bis zum Farbumschlag von grün nach grau titriert.

### Auswertung:

Zunächst sollen die Stickstoffgehalte N und anschließend die Proteingehalte der Proben errechnet werden. Durch Vergleich des für Ammoniumsulfat ermittelten prozentualen Gehaltes mit dem theoretische Stickstoffgehalt ist die Wiederfindung zu bestimmen.