**PROCES- OG LEVNEDSMIDDELTEKNIK**

#  Proteinbestemmelse i levnedsmidler

I et levnedsmiddel efter eget valg ønskes proteinindholdet bestemt ved Kjeldahlanalyse.

Der foretages en tripelbestemmelse, og gennemsnittet af resultaterne sammenlignes med det dekla­re­rede proteinindhold eller det, som kan slås op i en levnedsmiddeltabel.

**NB!** Metoden kræver brug af stærkt ætsende kemikalier. Fremgangsmåden og lærerens an­vis­ninger skal derfor følges nøje.

### **Udstyr og kemikalier**

500 mL Kjeldahl destruktionskolbe, Kjeldahl-kugle, 25 mL måleglas, 100 mL måleglas, destruk­tionsstativ, Kjeldahl-destillationsudstyr (se figur), 50 mL pipette, pipettesuger, burette, beskyt­telses­briller, konc. H2SO4, CuSO4.5H2O, K2SO4, kogesten (pimpsten), 0,100 M HCl, ca. 30% NaOH-opløsning, indikatorpapir, 0,100 M NaOH, Methylrødt-opløsning.

# Teori

1. Når proteinholdige levnedsmidler koges med konc. svovlsyre, sker der en ”våd forbrænding”, som katalyseres af Cu2+-ioner:

protein(C,H,N,O,P) → CO2(g) + H2O(g) + NH4+(aq) + H3PO4(aq)

1. Ved tilsætning af stærk base omdannes NH4+ til ammoniak (NH3):

NH4+(aq) + base (aq) → NH3(g) + H2O(l)

1. NH3 destilleres derpå over i et forlag, der indeholder en nøjagtigt afmålt mængde saltsyre, som neutraliserer NH3:

NH3(g) + syre (aq) → NH4+(aq) + H2O(aq)

1. Der skal være overskud af 0,100 M HCl i forlaget, og den overskydende mængde kan derpå be­stem­mes ved titrering med 0,100 M NaOH-opløsning:

H3O+(aq) + OH-(aq) 2H2O(l)

X

X ml af de 0,005 mol HCl

Er neutraliseret af NH3 fra prøven

Y = 50 ml – X

50 ml 0,1 M HCl

= 0,005 mol HCl

Hvad er x ?

Kan bestemmes hvis man finder Y

Y finde ved titrering men NaOH

 Y

##

## Fremgangsmåde

Ud fra varedeklarationen beregnes, hvor meget levnedsmiddel, der svarer til ca. 0,3 g protein. Denne mængde afvejes med 0,001g’s nøjagtighed og overføres til en destruktionskolbe.

Der tilsættes ca. 20 mL konc. H2SO4 , ca. 10 g K2SO4, en lille spatelfuld CuSO4.5H2O og 3-5 ko­ge­sten.

Kolben placeres i et destruktionsstativ i stinkskabet. Opvarmningen reguleres forsigtigt fra lave­ste til højeste temperatur og fortsættes, indtil opløsningen er blevet klar gullig-grøn. Derefter op­varmes yderligere et kvarter. Processen kan vare fra flere timer til flere dage afhængigt af lev­neds­midlets indhold af fedt og kulhydrat.

Når destruktionen er til ende, stilles kolben til afkøling. Hvis indholdet er stivnet, tilføres *forsigtigt* ca. 25 mL dem. vand (*vand i syre!*), og der omrystes, indtil massen er løsnet.

Destruktionskolbens indhold overføres derefter uden at spilde til en 500 mL rundkolbe, der i for­vejen indeholder ca. 100 mL vand. For at få det hele med vaskes destruktionskolben 3-4 gange under omrystning med ca. 25 mL vand, som der­efter hældes over i rundkolben. Til sidst tilsættes så meget vand, at rundkolben er lidt over halvt fuld.

**PROCES- OG LEVNEDSMIDDELTEKNIK**

# 4. Proteinbestemmelse i levnedsmidler

Rundkolben monteres i en Kjeldahl-destillations­opstil­ling som vist på figuren. Det er vigtigt at bruge teflontape i samlingen mellem rundkolbe og Y-rør, og at sætte slibklemmer på ved svaler og næb.



Til den 250 mL koniske kolbe, der tjener som for­lag, sæt­tes med pipette 50,00 mL 0,100 M HCl.

Under anvendelse af sikkerhedsbriller tilsættes nu ca. 80 mL 30% NaOH-opløsning gennem Y-rørets ene gren. Proppen sættes hurtigt på plads for at und­gå tab af NH3, og der tæn­des for køle­vandet. *Vær forsigtig! – NaOH-opløsningen er stærkt ætsende, og bland­ing­en bliver meget varm.*

Rundkolben opvarmes med bunsenbrænder bag stinkskabets beskyttelses­skærm, så indholdet kom­mer i kog. I be­gyn­del­­sen kan stød­­kogning være et alvorligt og farligt problem, som du skal søge hjælp for hos vej­lederen. Også skum­ning kan være generende, men er i øvrigt ufarligt. *Destillationen kræver altid 100% opmærksomhed hele tiden!*

Under processen destillerer NH3 over og opfanges af salt­syren i forlaget. Når ca. halvdelen af væ­­sken er destilleret over sænkes forlaget forsigtigt, så en dråbe af destillatet kan opfanges på et *lille* stykke indikatorpapir (max. 1 cm). Først, når destillatet er neutralt, er al NH3 er destilleret over, og destillationen kan da afbrydes.

Efter destillationen sættes et par dråber methylrødt-indikator til opløsningen i forlaget, hvorefter den titreres til omslag med 0,100 M NaOH-opløsning.

**Forsøgsresultater**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Afvejet mængde levnedsmiddel | (g) |  2 |
| Forbrug af 0,100 M NaOH ved titrering  | (mL) |  12 |

**Databehandling**

Beregning af proteinindholdet gennemføres lettest ved at udfylde tabellen nedenfor.

Bemærk, at NH3, HCl og NaOH reagerer indbyrdes i molforholdet 1:1.

Proteiner indeholder i gennemsnit ca. 16 vægt-% N, og 1 g N svarer derfor til ca. 6.25 g protein.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Stofmængde af HCl i forlag før destillationDvs Hvor mange mol er der i 50 ml 0,1 molær HCln = C x V (Husk volumen i L )  |  | 0,1mol/l x 0,05 l = 0,005 mol |
| Stofmængde af NaOH brugt til titreringHvor mange mol er der i 12 ml 0,1 M NaOHN = C x V Dvs Y værdien er 0,0012  |  | 0,1 mol/L x 0,012 l = 0,0012 mol |
| Stofmængde af HCl der er neutraliseret af NH3 fra Prøven ( X fra tegningen) (50 ml -Y = X)  |  | 0,005 – 0,0012 = 0,0038 mol |
| Stomængde af HCl, som har reageret med NH3  |  | Det er så den mængde af saltsyren der blev neutralisréret af N fra prøven – dvs det som ikke blev neutraliseret af NaOH = 0,0038 mol |
| Stofmængde af NH3 i destillatet |  | 0,0038 mol NH3  |
| Stofmængde af N i levnedsmidlet |  | 0,0038 mol  |
| Masse af N i levnedsmidlet | (g) | 0,0038 mol x 14.01 g/mol = 0,053g |
| Masse af protein i levnedsmidlet | (g) | 0,053 g N x 6,25 = 0,33 g  |
| Procentisk indhold af protein i levnedsmidlet | (%) | (0,33 g/2 g) x100% = 16,5 % |