

WALIDACJA METODY OZNACZANIA AZOTU W PASZACH I MATERIALE MIĘSNYM*

Robert Gąsior, Marta Szczypuła, Krystyna Sala

Instytut Zootechniki — Państwowy Instytut Badawczy, Centralne Laboratorium,
32-083 Balice k. Krakowa

Scharakteryzowano metodę oznaczania azotu i białka ogólnego (po przeliczeniu). Badania walidacyjne przeprowadzono na próbkach 25 pasz i 30 próbkach materiałów mięsnych. Stwierdzono trwałość mineralizatów przez co najmniej 12 dób od czasu ich przygotowania (współczynnik zmienności 0,69%). Powtarzalność i odtwarzalność metody nie przekraczały 2%. Niepewność metody ($P \leq 0,05$) uwzględniająca błędy mianowania (0,83%) oraz błędy związane z przygotowaniem próbki i pomiarem (2,83%) wynosiła 3%. Granica oznaczenia ilościowego azotu wynosiła 0,128% (pasje) i 0,045% (materiał mięsny). Podczas wykonywania rutynowych analiz powinny być sprawdzane: powtarzalność (granica powtarzalności 4%) oraz zawartość białka ogólnego w próbce kontrolnej.

Analizy oznaczania zawartości azotu ogólnego metodą Kjeldahla są podstawowymi metodami stosowanymi w dziedzinie analiz pasz i żywności. Technikę tę stosuje się od wielu lat i jest ona stosunkowo prosta (Skulmowski, 1974; AOAC 981.10, 1990; AOAC 984.13, 1990). Brak jest jednak publikacji, które przedstawiałyby charakterystykę tej metody z uwzględnieniem takich parametrów, jak: powtarzalność, odtwarzalność, granica powtarzalności, granica oznaczenia ilościowego, niepewność, trwałość mineralizatów przed wykonaniem w nich oznaczeń azotu. Parametry te, ogólnie opisane w literaturze (Arendarski, 2003; Dobecki, 1998; Ellison i in., 2000) są elementami walidacji i mają na celu wykazanie poprawności stosowanej metody zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (OECD Principles of GLP) i wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17025 (2005). Dodatkowym elementem walidacji jest również wykonanie analiz dostępnych materiałów referencyjnych i porównanie uzyskanych wyników z odpowiednimi wartościami referencyjnymi. Niektóre publikacje zawierają szczegółowe opisy charakterystyki metod analitycznych oznaczeń w paszach i żywności (Ake i in.,

* Praca wykonana w ramach działalności statutowej IZ — PIB, temat nr 2116.1.

1998; Kramer i in., 1997; Bütikofer i in., 1991; Gehrke i in., 1985), ale nie obejmują one zagadnień dotyczących szacowania niepewności. Zagadnienia te są natomiast omawiane w pracach Gąsiora i in. (2005), Gąsiora i Pieszki (2006) oraz Gąsiora i Ślusarczyk (2006).

Badania walidacyjne są bardzo istotne, ponieważ pomagają lepiej poznać ograniczenia danej metody. Na ich podstawie można również określić sposoby kontrolowania jakości wyników podczas wykonywania rutynowych analiz.

Materiał i metody

Odczynniki i aparatura

Użyto następujących odczynników: kwas solny 0,1 M (POCH, Gliwice), L-tyrozyna (Sigma-Aldrich, USA), wodorotlenek sodu 33% (POCH, Gliwice, 1000 g NaOH cz. + 2000 ml H₂O dest), siarczan amonu i żelaza (II) cz.d.a. (6-hydrat, POCH, Gliwice), bezwodny węgiel sodu cz.d.a., 99,9% (Merck, Niemcy), metanol cz.d.a. (POCH, Gliwice). Ponadto do oznaczeń azotu wykorzystywano tabletki Kjeldahl I (POCh nr kat 826180499, 2 tabletki na próbkę) lub mieszaninę: 7 g K₂SO₄ cz.d.a (POCH, Gliwice) + 0,8 g CuSO₄ × 5H₂O cz.d.a (POCH, Gliwice) w przeliczeniu na jedną próbkę oraz wskaźnik do detekcji punktu końcowego miareczkowania.

Odczyn roztworu wskaźnika ustalano do pH = 5,3–5,4 za pomocą 33% NaOH (około 2 krople). Wskaźnik sporządzano dodając do 4 litrów wody destylowanej (H₂O dest.): 100 g kwasu borowego cz. (POCH, Gliwice), 100 ml roztworu zieleni bromokrezolowej (POCH, Gliwice, 100 mg w 100 ml metanolu), 70 ml roztworu czerwieni metylowej (POCH, Gliwice, 100 mg w 100 ml metanolu); całą mieszaninę uzupełniano do 10 litrów za pomocą H₂O dest.

Oprócz podstawowego wyposażenia laboratoryjnego wykorzystano: młynek do mielenia pasz (Cyclotec 1093 Tecator) i mięsa (Moulinette D 56, Kenwood CH 180), wagę analityczną o dokładności 0,0001 g, próbówki do spalań (250 ml), blok do mineralizacji (Büchi Digest Automat K-438, Tecator Digestion System 20 1015 Digester), aparat do destylacji z parą wodną i miareczkowania wraz z biuretą automatyczną 25 ml (Büchi AutoKjeldahl-Unit K-370, Tecator Kieltec Auto 1030 — Analyzer).

Przygotowanie próbki badanego materiału, próbki kontrolnej i ślepej oraz obliczanie wyników

Świeży materiał mięsny mielono w młynku, a następnie zamrażano w temperaturze poniżej minus 18°C. Próbki przetrzymywano przez okres 1–3 miesięcy. Po rozmrożeniu materiał mieszano w celu jego ujednorodnienia. Suche pasze rozdrabniano (sito o oczkach 1 mm), a pasze wilgotne przed rozdrobnieniem podsuszano i przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach w kontrolowanych warunkach temperatury (20–30°C) i wilgotności (30–80%).

Do analizy pobierano z kilku miejsc próbkę reprezentatywną (pasze i materiał mięsny).

Badany materiał odważano (od 0,3 g do 1,5 g \pm 0,0001) na wytarowany sącdek (materiał mięsny) i umieszczano w próbówce do spalań lub bezpośrednio odważano do próbówki do spalań (pasze). Wielkość naważki zależy od zawartości azotu w badanym produkcie, jednorodności próbki, stężenia kwasu używanego do miareczkowania i pojemności biurety aparatu. Przy stosowaniu 0,1 M HCl do miareczkowania, zawartość azotu w naważce winna wynosić 0,01 g. W praktyce odpowiada to naważce 0,3 g dla próbek o przewidywanej zawartości białka powyżej 60% do 1,5 g dla próbek o przewidywanej zawartości białka poniżej 5%. Do odważonej próbki dodawano 2 tabletki Kjeldahla i 20 ml stężonego kwasu siarkowego, po czym mineralizowano przez 2,5 godziny w temperaturze od 370°C do 385°C. Po ostygnięciu roztworu próbki dodawano do niego 30 ml H₂O destylowanej, po czym mieszano, destylowano i miareczkowano. Każdą próbkę analizowano dwukrotnie. Próbkę kontrolną (L-tyrozyna) i próbkę ślepa (bez odważki badanego materiału) przygotowano analogicznie jak próbki do badań. Jeżeli określony na tyrozynie odzysk azotu był mniejszy od 98%, przeprowadzano dodatkowo bezpośrednią destylację siarczanu amonu i żelaza (II) i sprawdzano odzysk azotu, który nie powinien być mniejszy niż 99,2%. Zbyt niski odzysk zbadany na tyrozynie, a prawidłowy na siarczanie amonu i żelaza (II) świadczył o konieczności powtórzenia mineralizacji. Gdy określone odzyski na obu substancjach były zbyt niskie, szukano przyczyn nieprawidłowości w aparacie do destylacji (ustalenie punktu końcowego miareczkowania, nieszczelność aparatu). Wyniki korygowano o wartość próby ślepej według wzoru:

$$\text{Azot Kjeldahla (\%)} = \frac{(V - V_0) \times N \times 14,01}{W \times 10}$$

gdzie:

V — objętość 0,1 M solnego (ml) zużytego na miareczkowanie próbki,

V_0 — objętość 0,1 M solnego (ml) zużytego na miareczkowanie ślepej próby odczynnikowej,

N — miano HCl (mol/L),

14,01 — masa atomowa azotu,

W — naważka próbki lub standardu (g),

10 — współczynnik przeliczeniowy na zawartość %.

Zawartość białka ogólnego obliczano mnożąc uzyskaną zawartość azotu przez współczynnik przeliczeniowy 6,25 (PN-75/A-04018, 1975; PN-EN ISO 5983-2, 2005).

Walidacja

Pasze

Badania powtarzalności przeprowadzono na 25 podwójnych próbkach różnych

pasz: siano (1), mieszanki paszowe (7), mączka rybna (2), odżywka dla niemowląt (2), śruty sojowe (3), kiszonki (10). Badania odtwarzalności przeprowadzono na 5 paszach przeanalizowanych w powtórzeniu przez dwie osoby na dwóch aparatach (mieszanka paszowa, mączka rybna, odżywka dla niemowląt, kukurydza, śruta sojowa). Powtarzalność określano jako nie mniejszą niż współczynnik zmienności pojedynczych oznaczeń przeprowadzonych tą samą metodą, w badaniach identycznego materiału, w tym samym laboratorium, przez tego samego laboranta, w tym samym czasie. Odtwarzalność określano jako nie mniejszą niż współczynnik zmienności pojedynczych oznaczeń przeprowadzonych tą samą metodą, w badaniach identycznego materiału, w tym samym laboratorium, przez dwóch laborantów na dwóch aparatach, w różnym czasie. Współczynnik zmienności CV_{kn} dla k próbek analizowanych w n powtórzeniach był liczony ze wzoru:

$$CV_{kn} = \sqrt{\frac{\sum_k CV_{n2}^2}{k}}$$

gdzie:

współczynnik zmienności (CV_{n2}) oznaczenia próbki w powtórzeniu ($n = 2$) obliczono ze wzoru:

$$CV_{n2} = 100 \times \frac{SD_{n2}}{X_{Sr}}$$

SD_{n2} — odchylenie standardowe z dwóch pomiarów danej próbki,

X_{Sr} — średnia z dwóch pomiarów danej próbki.

Jako kryterium powtórzenia oznaczeń (granica powtarzalności) przyjęto podwojony współczynnik zmienności dla powtarzalności.

Granice oznaczenia ilościowego wyznaczono na podstawie pomiarów objętości 0,1 M kwasu zużytego do miareczkowania 21 prób ślepych, ze wzoru (Dobecki, 1998):

$$X_{ozn} = \frac{10 \times S_{SP}}{b}$$

gdzie:

X_{ozn} — granica oznaczenia ilościowego,

S_{SP} — odchylenie standardowe ilości ml 0,1 M kwasu solnego zużytego do miareczkowania ślepej próby,

b — czułość określona jako ilość ml 0,1 M kwasu solnego odpowiadająca zawartości 1% azotu w próbce o naważce 1 g.

Określono główne czynniki niepewności, takie jak: niepewność oznaczenia zawartości azotu w próbce i niepewność miareczkowania, składające się na niepewność opisanej metody. Niepewność oznaczenia zawartości azotu w próbce N_p zdefiniowano jako podwojoną wartość współczynnika zmienności średniej arytmetycznej ($P \leq 0,05$) z analiz danej próbki lub jako maksymalną z dwóch wartości (powtarzalność, odtwarzalność), pomnożoną przez 1,4. Niepewność miareczkowania N_{miar} ($P \leq 0,05$) uwzględnia niepewność ustalenia miana kwasu użytego do miareczkowania (N_1) oraz niepewność dokładności biurety (D) i jest liczona zgodnie z zasadą propagacji Gaussa [$N_{miar} = (N_1^2 + D^2)^{1/2}$]. Niepewność metody N_c uwzględnia niepewność oznaczenia zawartości azotu w próbce i niepewność miareczkowania. Niepewność metody ($P \leq 0,05$) jest wyliczona zgodnie z zasadą propagacji Gaussa [$N_c = (N_p^2 + N_{miar}^2)^{1/2}$]. Powtarzalność, odtwarzalność, granicę powtarzalności i niepewność wyrażono w postaci błędu względnego (%). Granicę oznaczenia ilościowego wyrażono w jednostkach zawartości azotu ogólnego (%).

Materiał mięsny

Badania powtarzalności przeprowadzono na 30 podwójnych próbkach (10 próbek homogenatu mięsnego, 10 próbek podgardla wieprzowego, 10 próbek piersi indyka). Badania odtwarzalności przeprowadzono w powtórzeniu, na 20 różnych próbkach mięsa. Powtarzalność, odtwarzalność, granicę powtarzalności, granicę oznaczenia ilościowego, niepewności określano analogicznie jak w przypadku badań walidacyjnych pasz. Zbadano trwałość mineralizatów w ciągu 12 dob. W tym celu wykonano oznaczenia zawartości azotu w 6 mięsnych mineralizatach w 1., 7. i 12. dobie od czasu ich przygotowania.

Dodatkowym elementem walidacji było porównanie wyników uzyskanych w analizach materiałów referencyjnych, paszy dla drobiu (LGC 7173, LGC Queens Road, Teddington, Middlesex TW11 OLY, UK, www.lgc.co.uk) i mięsa homogenizowanego (SRM 1546, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD20899, US, www.nist.gov/srm) z wartościami referencyjnymi przypisanymi tym materiałom (tab. 3).

Wyniki

Wyniki dotyczące zawartości białka ogólnego w badanych materiałach i współczynniki zmienności dla warunków powtarzalności przedstawiono w tabeli 1. Niepewność miareczkowania i niepewność oznaczenia zawartości azotu w próbce wynosiły odpowiednio 0,83% i 2,83%. Trwałość mineralizatów wyrażona współczynnikiem zmienności pomiędzy wynikami analiz wykonanych w 1., 7. i 12. dniu od przygotowania mineralizatów wynosiła 0,69%. Pozostałe dane dotyczące parametrów walidacyjnych metody zostały zebrane w tabeli 2. Wartości referencyjne i wyniki oznaczeń materiałów referencyjnych (% białka ogólnego = % azotu \times 6,25) przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 1. Zawartości białka ogólnego w badanych materiałach i współczynniki zmienności
 Table 1. Crude protein content of the analysed material and coefficients of variation

Badany materiał Material analysed	Zawartość Content	Współczynnik zmienności dla powtarzalności Coefficient of variation for repeatability (%)	Liczba próbek Number of samples
Pasze (% w SM): Feeds (% in DM)		1,1	25
Mączka rybna Fish meal	71,7		2
Śruta sojowa Soybean meal	47,4	1,0	3
Mieszanki paszowe Feed mixtures	14,5–17,9		7
Odżywka dla niemowląt Baby food	13,5	0,2	2
Siano i kiszonki Hay and silages	5,3–8,2	1,3	11
Materiał mięsny (% w świeżym produkcie) Meat material (% in fresh produkt)		1,9	30
Homogenat mięsny Meat homogenate	15,0		10
Podgardle wieprzowe Pork chop	8,7	1,9	10
Piersi indycze Turkey breasts	23,3		10

Tabela 2. Parametry walidacji metody oznaczania azotu/białka ogólnego w paszach i materiale mięsnym
 Table 2. Validation parameters of the nitrogen/crude protein determination method in feeds and meat material

Badany materiał Material analysed	Powtarzalność oznaczona/ przyjęta Determined/ Accepted repeatability (%)	Granica powtarzal- ności Limit of repeatability (%)	Odtwarzalność oznaczona/ przyjęta Determined/ accepted reproducibility (%)	Granica oznaczenia ilościowego % azotu Limit of % nitrogen quantitation	Niepewność Uncertainty
Pasze Feeds	1,0/2	4	1,1/2	0,128	3
Materiał mięsny Meat material	1,9/2	4	1,9/2	0,045	3

Tabela 3. Wyniki oznaczeń białka ogólnego (%) w materiale referencyjnym LGC 7173 (pasza dla drobiu) i materiale referencyjnym SRM 1546 (mięso homogenizowane)
 Table 3. Results of crude protein determination (%) in LGC 7173 reference material (poultry feed) and SRM 1546 reference material (homogenized meat)

LGC 7173			SRM 1546		
Wartości oznaczone Determined values (%)	Wartość średnia Average value (%)	Wartość odniesienia Reference value (%)	Wartości oznaczone Determined values (%)	Wartość średnia Average value (%)	Wartość odniesienia Reference value (%)
17,03			14,81		
16,78			14,92		
16,84	16,97	16,94 ± 0,44	14,95	15,01	14,9 ± 1,0
16,86			14,82		
16,97			15,07		
17,09			15,03		
17,21			15,10		
			15,05		
			15,25		
			15,08		

Omówienie wyników

Błędy charakteryzujące analizy pasz i materiału mięsnego na zawartość białka ogólnego są relatywnie małe w porównaniu z innymi analizami, w tym z bardziej złożonymi technikami instrumentalnymi (Qian i Sheng, 1998; Gašior i in., 2005; Gašior i Pieszka, 2006; Gašior i Ślusarczyk, 2006).

Granice oznaczenia ilościowego zostały obliczone w oparciu o czułość techniki miareczkowania, z której wynika, że 1 ml 0,1 M HCl reaguje z 1,4 mg azotu. Zastosowanie standardowej odważki badanego materiału wynoszącej 1 g, z uwzględnieniem zmienności wyrażonej w postaci 10-krotnego odchylenia standardowego ilości kwasu użytego do miareczkowania, wynoszącej 0,32 i 0,87 ml, wyznacza wartości granicy oznaczenia ilościowego. Wartości te wyliczone w oparciu o powyższe założenia są wystarczające do oznaczeń azotu w paszach, materiale mięsnym i jego produktach, bogatych w białko zawierające znaczne ilości związków tego pierwiastka. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że granicę oznaczenia ilościowego można jeszcze obniżyć, stosując większą odważkę badanego materiału.

Na niepewność metody (Nc) składają się główne czynniki niepewności takie jak: błędy miana kwasu używanego do miareczkowania i dokładność biurety (razem stanowią one czynnik niepewności związany z miareczkowaniem Nmiar) oraz błędy związane z przygotowaniem próbki i pomiarem w niej zawartości azotu (niepewność oznaczenia zawartości azotu w próbce, Np). Błędy przygotowania

próbki i pomiaru obejmują przede wszystkim: błąd odważania, mineralizacji (błędy związane z warunkami, w jakich mineralizacja została przeprowadzona), błędy przenoszenia próbki oraz błędy samego oznaczenia (destylacja, miareczkowanie). Błędy te są automatycznie uwzględnione w niepewności N_p wówczas, jeżeli obliczane z dwóch powtórzeń wyniki dotyczą oznaczeń mineralizatów pochodzących z dwóch równoległe naważonych próbek. Gdyby bowiem próbka była naważona bez powtórzeń, a otrzymany mineralizat byłby analizowany dwukrotnie, to wtedy niepewność oznaczenia azotu w próbce obejmowałaby tylko błąd samego oznaczenia aparatem. Wymienione powyżej czynniki niepewności są najistotniejsze i wnoszą, zgodnie z zasadą propagacji Gaussa (Ellison i in., 2000), największy wkład w wartość niepewności metody dla analiz wykonanych w jednym laboratorium. Niepewność metody, wraz z wynikiem traktowanym jako średnia z pomiarów, ma znaczenie praktyczne przy jego interpretacji i określa przedział tolerancji, w jakim powinna się znaleźć z prawdopodobieństwem 95% rzeczywista wartość wyniku oznaczenia. Niepewność powinna być kontrolowana przy każdej analizie próbek przez sprawdzanie powtarzalności i może być większa w przypadku tych analiz, które mimo wykonania powtórnych badań nie spełniają kryterium powtarzalności.

Wartość współczynnika zmienności, charakteryzująca trwałość mineralizatów nie przekraczała wartości niepewności metody, co skłania do wniosku, że są one trwałe co najmniej przez okres 12 dób.

Wiarygodność opisanej metody analitycznej została potwierdzona analizami dwóch materiałów referencyjnych: LGC 7173 (pasza dla drobiu) i SRM 1546 (mięso homogenizowane). Wartości oznaczone niniejszą metodą mieszczą się w przedziałach ufności określonych dla wartości referencyjnych, a różnice procentowe między tymi wartościami są niskie i nie przekraczają 2,4.

Ustalono, że podczas wykonywania analiz, sprawdzane będą: powtarzalność oraz zawartość białka w próbce kontrolnej (np. materiał referencyjny). W tym celu określono granicę powtarzalności (4% dla analiz obu rodzajów materiału), której nie powinno się przekraczać w więcej niż 5% przypadków podwójnie wykonywanych analiz każdej próbki. Zwalidowana metoda cechuje się dużą dokładnością i wiarygodnością, co zostało potwierdzone wynikami oznaczeń materiałów referencyjnych.

Piśmiennictwo

- Ake M., Fabre H., Malan A.K., Mandrou B. (1998). Column liquid chromatography determination of vitamins A and E in powdered milk and local flour: a validation procedure. *J. Chrom. A*, 826: 183–189.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 981.10, 15th Edition Washington, DC: 937.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 984.13, 15th Edition Washington, DC: 74.

- Arendarski J. (2003). Niepewność pomiarów. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej. Warszawa.
- Bütikofer U., Fuchs D., Bosset J.O., Gmür W. (1991). Automated HPLC-amino acid determination of protein hydrolysates by precolumn derivatization with OPA and FMOC and comparison with classical ion exchange chromatography. *Chromatographia*, vol. 31, No. 9/10: 441–447.
- Dobecki M. (1998). Zapewnienie jakości analiz chemicznych. Instytut Medycyny Pracy im. prof. dra med. J. Nofera Press, Łódź.
- Ellison S.L.R., Rosslein M., Williams A. (Ed.) (2000). Quantifying uncertainty in analytical measurement. Eurachem/Citac Guide 2000.
- Gehrke C.W., Wall L.L. Sr, Absheer J.S., Kaiser F.E., Zumwalt R.W. (1985). Sample preparation for chromatography of amino acids : acid hydrolysis of proteins. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68, 5: 811–821.
- Gąsior R., Ślusarczyk K., Szczypuła M. (2005). Validation of a method for determining amino acids in acid hydrolysates of feeds. *Ann. Anim. Sci.*, 5, 1: 181–197.
- Gąsior R., Pieszk M. (2006). Evaluation of vitamins A and E level in meat by HPLC. *Anim. Sci.*, 1, Suppl. October 2006, pp.: 88–89.
- Gąsior R., Ślusarczyk K. (2006). Charakterystyka metody oznaczania aminokwasów siarkowych w paszach i żółtkach jaj. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 33 (2): 241–253.
- Kramer J.K.G., Blais L., Fouchard R.C., Melnyk R.A., Kallury K.M.R. (1997). A rapid method for the determination of vitamin E forms in tissues and diet by High-Performance Liquid Chromatography using a normal-phase diol column. *Lipids*, 32, 3: 323–330.
- OECD Principles of Good Laboratory Practice, <http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-7/a/7ag4a.pdf>
- PN-75/A-04018 (1975). Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko. Polski Komitet Normalizacyjny.
- PN-EN ISO 5983-2 (2005). Pasze. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Część 2: Metoda z użyciem bloku do spalań. Polski Komitet Normalizacyjny.
- PN-EN ISO/IEC 17025 (2005). Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących. Polski Komitet Normalizacyjny.
- Qian H., Sheng M. (1998). Simultaneous determination of fat-soluble vitamins A, D and E and pro-vitamin D₂ in animal feeds by one-step extraction and high-performance liquid chromatography analysis. *J. Chrom. A*, 825: 127–133.
- Skulmowski J. (1974). Metody określania składu pasz i ich jakości. PWRiL. Warszawa.

Zatwierdzono do druku 22 V 2007

ROBERT GAŚSIOR, MARTA SZCZYPUŁA, KRYSZYNA SALA

Validation of a nitrogen determination method in feed and meat material

SUMMARY

This study characterizes a method for determination of nitrogen and crude protein (after conversion). A validation study was carried out using 25 feed samples and 30 samples of meat material. Mineralizates were stable for at least 12 days after preparation (variation coefficient of 0.69%). Method repeatability and reproducibility did not exceed 2%. Method uncertainty ($P \leq 0.05$) accounting for titration errors (0.83%) and sample preparation and measurement errors (2.83%) was 3%. The limit of nitrogen quantitation was 0.128% (feeds) and 0.045% (meat material). Repeatability (limit of

repeatability of 4%) and crude protein content of the control sample should be checked during routine analyses.

Key words: validation, nitrogen, Kjeldahl, feeds, meat