

**Metodenavn: Ammonium-N**

BIOVIT-nr.: Arb1133

---

**1. Innledning/hensikt**

Fôrprotein blir normalt delt inn ren-protein og ikke-protein-nitrogen (non protein nitrogen, NPN). Ren-protein er det man normalt kaller protein og det er bygd opp av forskjellige aminosyrer som er satt sammen i lengre kjeder. NPN består av enklere nitrogenforbindelser som ammoniakk, nitrater, amider, nukleinsyrer, frie aminosyrer og peptider av ulik størrelse. Mikrober i vomma bryter ned og hydrolyserer ren-proteinet til peptider og aminosyrer, og disse brytes videre ned til ammoniakk ( $\text{NH}_3$ ), som er det viktigste utgangsstoffet for mikrobiell syntese av proteiner. 70% av nitrogenet som bindes opp som  $\text{NH}_3$  i vomma stammer fra ren-protein, mens de resterende 30% kommer fra NPN-kilder

I vomsaft foreligger ikke ammoniakk som  $\text{NH}_3$  men hovedsakelig som ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), og det er  $\text{NH}_4^+$ -konsentrasjonen som blir bestemt i denne analysen.  $\text{NH}_4^+$ -konsentrasjonen i vomsaft avhenger av type fôr dyrene får og hvor lang tid etter fôring prøven tas. Konsentrasjonen varierer normalt mellom ca. 4-12 mmol/L (70-220 mg/L) og er høyest ca. to timer etter fôring.

I væsker kan  $\text{NH}_4^+$ -konsentrasjonen bestemmes på flere måter, både fotometrisk og ved destillering med en påfølgende syre-basetitrering. I denne metoden bestemmes  $\text{NH}_4^+$ -konsentrasjonen ved hjelp av de to siste trinnene i Kjeldahlanalysen. Metoden er generell og kan benyttes til å bestemme konsentrasjonen av  $\text{NH}_4^+$  i de fleste væsker.

**2. Reagenser**

- Borsyre med metylrødt og bromkresolgrønt (indikatorer)
- Natriumhydroksid, NaOH (35 %).
- Saltsyre (0,2 M)
- RO-vann

**3. Risikovurdering**

Natriumhydroksid og saltsyre er etsende. Ved søl på klær må disse fjernes umiddelbart og huden skylles med store mengder vann. Ved søl på bar hud skal det skylles med store mengder vann. Borsyreløsningen er veldig fortynnet og har ingen faremerking.

**4. Utstyr**

- Kjeltec Auto TM 8400
- Kokeblokk 2520 Auto
- Kjeldahl blokker m/Kjeldahlrør.
- Pipette, 5 mL

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Michel Brunet Berg	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 05.2013	Revisjon 02.2020	Erstatte: 06.2018	Dokumentnavn 1133_Arb_Ammoni um-N_NO	Side 1/2

## 5. Prøvemateriale

Det pipetteres ut 4 mL vomsaft som er konserverert med konsentrert maursyre (5:100).

## 6. Spesielle merknader

## 7. Arbeidsbeskrivelse

1. Sentrifuger prøvene på 3000 rpm i 20 min
2. Fyll opp et helt stativ med Kjeldahl-rør
3. Legg merke til nummeret på stativet og la flaten nummeret står på være ved rad nr. 1, hvor prøve nr. 1 starter fra venstre side
4. Lag en blank prøve (nr. 1)
5. Lag en standard – pipetter ut 4 mL av standardløsningen (150 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L)
6. Pipetter ut 4 mL vomsaft og overfør dette til et Kjeldahl-rør
7. Prøvene er nå klare for analyse på Kjeltec 8400
8. Sjekk at vekta har riktig program for innveing av Ammonium-N.
  - Trykk application > system > peripherals
  - Printer skal stå på «OFF», Host skal stå på «RS232», trykk «OK» og «exit»
    - se evt. Egen manual som ligger ved vekta

Legge inn sekvens i Compass (PC lengst til høyre på veierommet)

9. Åpne «launch Compass» på desktop, varsel kommer opp, trykk «YES».
10. Log inn: Username: Admin
11. Pin-code: 1234 OK.
12. Trykk new batch ikonet (øverst til venstre).
13. Skriv inn blokk nr på «batch name».
14. Det skal stå kjeldahl på Analyse type.
15. Trykk på 20rack 250 ml på «Rack name».
16. Trykk på «samples» øverst.
17. Rør 1 står alltid som mL blank, trykk OK for antall blanker vi vil ha. Hvis vi skal ha 3 blanker, trykk OK tre ganger
18. Gjør den siste blanken til prøve (rør 4).
  - a. Trykk på «Show details», «sample type»: gjør om blank til sample,
  - b. «result type»: gjør om ml til mg N/L.
19. Skriv inn ID på prøven: ID eks: Rekvisisjonsnummer 36-1 osv.
20. Sett pekeren i feltet ved siden av «Get», tast inn 4,0, trykk OK.
  - a. Sjekk at vekta har gått inn.
21. Programmet går automatisk til neste rør, skriv inn neste ID.
22. Er det ikke full blokk, husk å trykke «delete sample» på siste prøve som kommer opp.
23. Trykk «Save»,
24. Trykk «Send batches»

## 8. Utregning

Kjeltec 8400 beregner resultatene og utgir dem i **mg N/L prøve**.

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Michel Brunet Berg	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 05.2013	Revisjon 02.2020	Erstatte: 06.2018	Dokumentnavn 1133_Arb_Ammoni um-N_NO	Side 2/2