



Application Note AN-T-195

Bestimmung des Stickstoffgehalts

Kjeldahl-Bestimmung nach USP General Chapter <461>

Die Kjeldahl-Methode wird zur Bestimmung des Stickstoffgehalts in organischen und anorganischen Proben angewendet. Die Kjeldahl-Analyse besteht aus drei Schritten: Aufschluss, Destillation und Titration. Während des katalytischen Aufschlusses wird organischer Stickstoff (mit Ausnahme von Nitro- und Azo-Gruppen und Stickstoff in Ringen) in Ammonium umgewandelt. Unmittelbar vor dem Destillationsschritt wird Natriumhydroxid zugesetzt, um das Ammonium in Ammoniak umzuwandeln. Letzteres wird durch Wasserdampfdestillation in einen Sammelbehälter überführt, der ein

Absorptionsmittel (z. B. Borsäure) enthält. Schließlich wird das abgetrennte Ammoniak mit Schwefelsäure titriert.

Der Proteingehalt von Proben kann auch anhand des Stickstoffgehalts bestimmt werden, der mit dem Kjeldahl-Verfahren ermittelt wird. USP <461> beschreibt die Titrationmethode zur Bestimmung des Stickstoffgehalts in organischen Produkten mit Hilfe des Kjeldahl-Stickstoffansatzes. Diese Application Note beschreibt die Stickstoffbestimmung in Heparin-Natrium.

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Die Analyse wird an Heparin-Natrium demonstriert. Eine angemessene Menge Heparin-Natrium wird genau abgewogen und in einen sauberen Zweihals-Rundkolben überführt. Für den Aufschluss werden Natriumsulfat, Kupfersulfat und Schwefelsäure zugegeben. Der Inhalt wird vorsichtig bis unter den Siedepunkt erhitzt, solange bis die Schaumbildung aufhört. Dann wird er erneut bei höherer Temperatur erhitzt, bis der Inhalt siedet und die Lösung braun wird. Der Inhalt wird abgekühlt und

kohlendioxidfreies Wasser wird unter gründlichem Mischen vorsichtig zugegeben. Natriumhydroxidlösung wird durch den Seitenhals des Rundkolbens zugegeben. Granuliertes Zink wird zugegeben und der Kolben sofort an die Kjeldahl-Stickstoffdestillationsanlage angeschlossen. Der Auslass der Anlage taucht in eine Borsäurelösung. Die Destillation wird so lange durchgeführt, bis etwa 80 % des Gesamtvolumens in die Borsäurelösung übergegangen sind.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Analyse wird automatisch auf einem Titrando-System durchgeführt, das einen 905 Titrando beinhaltet. Die Unitrode wird für die Indikation der Titrationskurve verwendet.

Die vorbereitete Probe wird potentiometrisch gegen standardisierte Schwefelsäure bis nach dem ersten Äquivalenzpunkt titriert.



Abbildung 1. Beispiel für ein Titrando-System, bestehend aus einem 905 Titrando und einem 900 Touch Control. Alternativ kann der 905 Titrando auch an einen PC angeschlossen und über tiamo gesteuert werden.

ERGEBNISSE

Es ergeben sich steile Titrationskurven, bei denen der Äquivalenzpunkt zuverlässig mit dem Touch Control oder *tiamo*TM ausgewertet wird.

Der ermittelte Stickstoffgehalt von Heparin-Natrium

beträgt 1,581% (SD(rel) = 1,48%, n = 5) und liegt damit innerhalb des von der USP spezifizierten Stickstoffgehalts (1,3% bis 2,5%) für Heparin-Natrium.

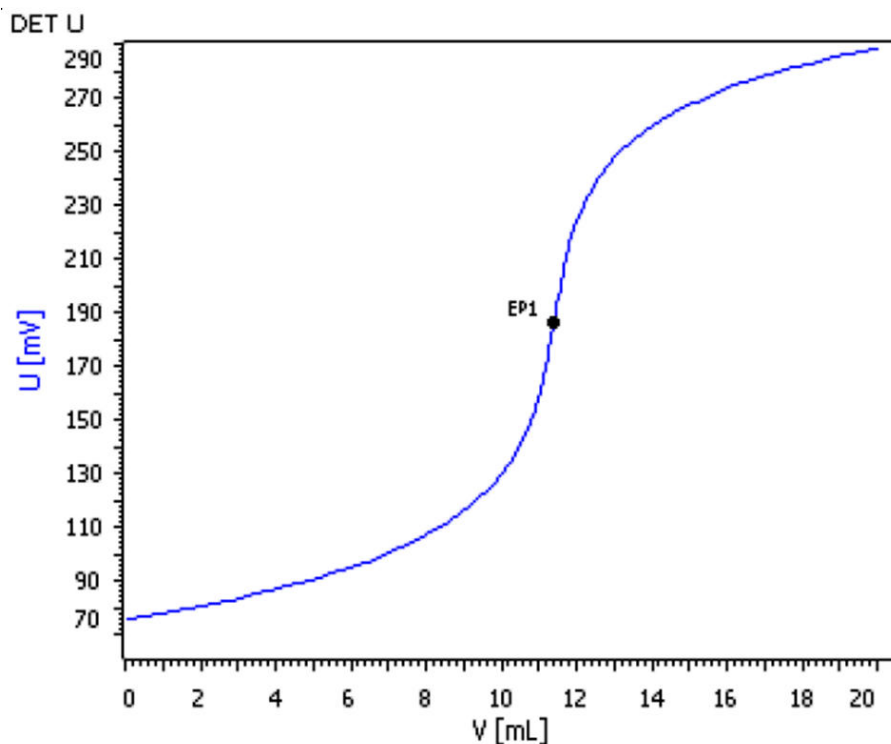


Abbildung 2. Titrationskurve der Kjeldahl-Bestimmung von Heparin-Natrium nach USP General Chapter <461>.

FAZIT

Diese Methode bietet die Möglichkeit, den Stickstoffgehalt in verschiedenen Arten von Proben automatisch, genau und zuverlässig durch Titration gemäß dem General Chapter <461> der USP zu bestimmen.

Neben Heparin-Natrium können auch die folgenden Verbindungen mit dieser Methode analysiert werden:

- Antithrombin III Human
- Beta-Glucan
- Cellulose-Natriumphosphat
- Chlorophyllin-Kupfer-Komplex-Natrium
- Kolloidales Hafermehl
- Copovidon
- Crospovidon
- Dalteparin-Natrium
- Dextran 1
- Dextrin
- Dihydroxyaluminiumaminoacetat,
- Enoxaparin-Natrium etc.
- Guarkernmehl
- Mecamylamin-Hydrochlorid-Tabletten
- Melphalan
- Polyvinylacetat-Dispersion
- Povidon-Jod
- Povidon
- Psyllium-Hemicellulose
- Pullulan
- Racemisches Calcium Pantothenat
- Ralbumin menschlich
- Gerüst der Rinderdermis
- Spirulina-Tablette
- Taurin
- Thioguanin
- Trehalose
- Weizenkleie
- Maiseiweiß

CONTACT

Metrohm Inula
Shuttleworthstraße 25
1210 Wien

office@metrohm.at

KONFIGURATION



905 Titrande

High-end-Titrator für die potentiometrische Titration mit einem Messinterface zur Verwendung mit den Dosino-Dosierungssystemen.

- bis zu vier Dosier-Systemen des Typs 800 Dosino
- dynamische (DET), monotone (MET) und Endpunkttitration (SET)
- Messung mit ionenselektiven Elektroden (MEAS CONC)
- Dosierfunktionen mit Überwachung, Liquid Handling
- vier MSB-Anschlüsse für zusätzliche Rührer oder Dosier-Systeme
- intelligente Elektroden "iTrode"
- USB-Anschluss
- Verwendung mit OMNIS-Software, *tiamo*-Software oder Touch Control
- Erfüllt GMP/GLP- und FDA-Anforderung wie 21 CFR Part 11, falls erforderlich



iUnitrode mit Pt1000

Intelligente, kombinierte pH-Elektrode mit integriertem Speicherchip für Sensordaten und Pt1000-Temperaturfühler. Diese Elektrode eignet sich besonders:

- für pH-Messungen und Titrationsen in schwierigen, viskosen oder alkalischen Proben
- bei erhöhter Temperatur
- für Langzeitmessungen

Das Festschliffdiaphragma ist gegen Verschmutzung unempfindlich.

Referenzelektrolyt: $c(\text{KCl}) = 3 \text{ mol/L}$, Aufbewahrung in Aufbewahrungslösung.

Alternativ: Referenzelektrolyt für Messungen bei $T > 80^\circ\text{C}$: Idrolyt, Aufbewahrung in Idrolyt.

iTrodes können an Titrando, Ti-Touch oder den 913/914 Metern verwendet werden.