



Application Note AN-T-195

Determinación del contenido de nitrógeno

Determinación Kjeldahl según USP <461>

El método Kjeldahl se utiliza para determinar el contenido de nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas. El análisis Kjeldahl consta de tres pasos: digestión, destilación y titulación. Durante el paso de digestión catalítica, el nitrógeno orgánico (excepto los grupos nitro y azo y el nitrógeno en los anillos) se convierte en amonio. El hidróxido de sodio se agrega justo antes del paso de destilación para convertir el amonio en amoníaco. A través de la destilación al vapor, este último se transfiere al recipiente receptor que contiene un agente absorbente (por ejemplo,

ácido bórico). Finalmente, el amoníaco separado se titula con ácido sulfúrico.

El contenido de proteínas en las muestras también puede determinarse a partir del contenido de nitrógeno obtenido por la configuración Kjeldahl. USP<461> describe el método de titulación para determinar el contenido de nitrógeno en productos orgánicos utilizando la configuración de nitrógeno Kjeldahl. Esta Application Note ilustra la determinación de nitrógeno en heparina sódica.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El análisis se demuestra en heparina sódica. Se pesa con precisión una cantidad adecuada de heparina sódica y se transfiere a un matraz limpio de fondo redondo de dos bocas. Se agregan sulfato de sodio, sulfato de cobre y ácido sulfúrico para el proceso de digestión. El contenido se calienta suavemente por debajo del punto de ebullición hasta que cesa la formación de espuma. Luego se vuelve a calentar a una temperatura más alta hasta que el contenido hierve y la solución se vuelve marrón. El contenido se

enfría y se agrega cuidadosamente agua libre de dióxido de carbono mientras se mezcla bien. Se añade solución de hidróxido de sodio a través del cuello lateral del matraz de fondo redondo. Se agrega zinc granulado y el matraz se conecta inmediatamente a la instalación de destilación de nitrógeno Kjeldahl. La salida de la instalación se pone en una solución de ácido bórico. La destilación se lleva a cabo hasta que aproximadamente el 80% del volumen total se transfiera a la solución de ácido bórico.

EXPERIMENTO

El análisis se realiza automáticamente en un sistema Titrande que consiste en un 905 Titrande. El Unitrode se utiliza para la indicación de la curva de titulación. La muestra preparada se titula potenciométricamente frente a ácido sulfúrico estandarizado hasta después del primer punto de equivalencia.



Figure 1. Ejemplo de un sistema Titrande compuesto por un 905 Titrande y un 900 Touch Control. Alternativamente, el 905 Titrande también se puede conectar a una PC y controlar por tiamo.

RESULTADOS

Se obtienen curvas de valoración nítidas cuando el punto de equivalencia se determina de forma fiable mediante el control táctil o *tiamo*TM.

El contenido de nitrógeno determinado de la

heparina sódica es 1,581 % (SD(rel) = 1,48 %, n = 5), que está dentro del contenido de nitrógeno especificado por la USP (1,3 % a 2,5 %) para la heparina sódica.

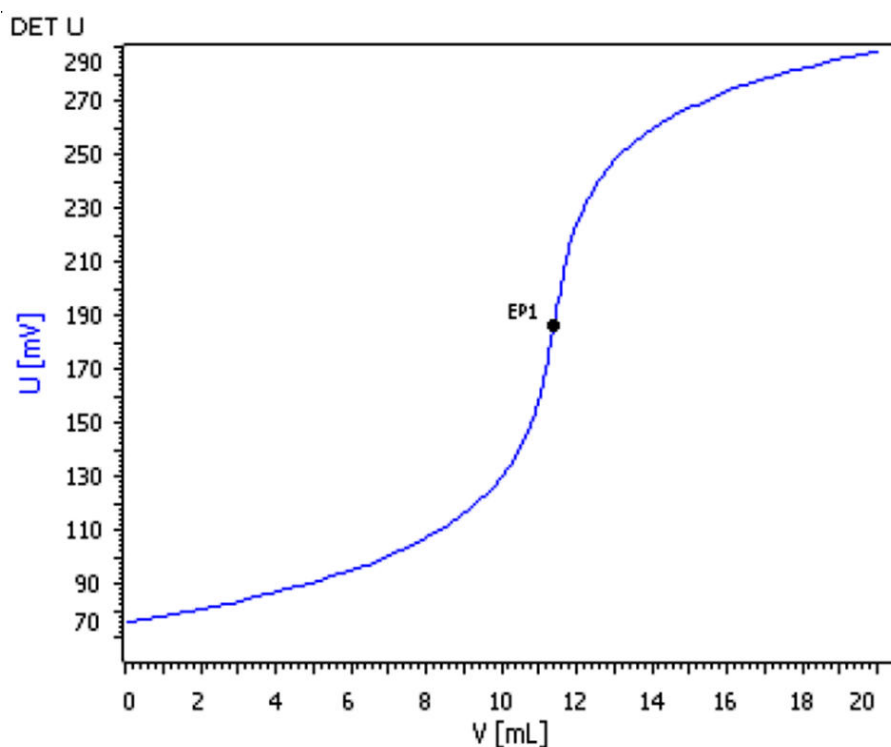


Figure 2. Curva de titulación de la determinación Kjeldahl de heparina sódica según el capítulo general <461> de la USP.

CONCLUSIÓN

Este método muestra la posibilidad de determinar el contenido de nitrógeno en varios tipos de muestras de forma automática, precisa y fiable mediante la titulación según el **Capítulo general de la USP <461>**. Aparte de la heparina sódica, los siguientes compuestos también se pueden analizar con este método:

- Antitrombina III Humana
- Beta glucano
- Fosfato de sodio de celulosa
- Clorofilina cobre complejo sódico
- Avena coloidal
- Copovidona
- Crespovidona
- Dalteparina sódica
- Dextrano 1
- Dextrina
- Aminoacetato de dihidroxialuminio,
- Enoxaparina sódica, etc.
- Goma de guar
- Tabletas de clorhidrato de mecamilamina
- Melfalán
- Dispersión de acetato de polivinilo
- Povidona yodada
- Povidona
- Hemicelulosa de psyllium
- Pululano
- Pantotenato de calcio racémico
- Ralbúmina humana
- Andamio dermis bovina
- Tableta de espirulina
- Taurina
- Tioguanina
- Trehalosa
- Salvado de trigo
- Zein

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



905 Titrando

Titulador de alta gama para la titulación potenciométrica con una interfaz de medida para el uso con los sistemas de dosificación Dosino.

- hasta cuatro sistemas de dosificación de tipo 800 Dosino
- titulación dinámica a punto de equivalencia (DET), monótona a punto de equivalencia (MET) y a punto final (SET)
- medida con electrodos ion-selectivos (MEAS CONC)
- funciones de dosificación con monitorización, Liquid Handling
- cuatro conectores MSB para agitadores o sistemas de dosificación adicionales
- electrodos inteligentes "iTrode"
- Conector USB
- Uso con OMNIS Software, software *tiamo* o Touch Control
- Cumple las normativas GMP/GLP y FDA, así como la 21 CFR Parte 11, de ser necesario



iUnitrode con Pt1000

Electrodo pH combinado inteligente con chip de memoria integrado para datos del sensor y sensor de temperatura Pt1000. Este electrodo es especialmente apto:

- para titulaciones y medidas de pH en muestras difíciles, viscosas o alcalinas
- para temperaturas elevadas
- para medidas de larga duración

El diafragma esmerilado fijo es resistente a la contaminación.

Electrolito de referencia: $c(\text{KCl}) = 3 \text{ mol/L}$, almacenamiento en una solución de conservación.

Alternativamente: electrolito de referencia para medidas a $T > 80^\circ\text{C}$: Idrolyte, conservación en Idrolyte. iTrodes se puede utilizar en Titrando, Ti-Touch o los 913/914-Meter.