



Application Note AN-T-195

Determinazione del contenuto di azoto

Determinazione Kjeldahl secondo il capitolo generale USP <461>

Il metodo Kjeldahl viene utilizzato per determinare il contenuto di azoto in campioni organici e inorganici. L'analisi Kjeldahl consiste in tre fasi: digestione, distillazione e titolazione. Durante la fase di digestione catalitica, l'azoto organico (tranne i gruppi nitro e azo e l'azoto negli anelli) viene convertito in ammonio. L'idrossido di sodio viene aggiunto poco prima della fase di distillazione per convertire l'ammonio in ammoniaca. Quest'ultimo, mediante distillazione in corrente di vapore, viene trasferito nel recipiente ricevente contenente un agente assorbente

(es. acido bórico). Infine, l'ammoniaca separata viene titolata con acido solforico.

Dal contenuto di azoto ottenuto con la configurazione Kjeldahl è possibile determinare anche il contenuto di proteine nei campioni. USP<461> descrive il metodo di titolazione per determinare il contenuto di azoto nei prodotti organici utilizzando la configurazione dell'azoto Kjeldahl. In questa Application Note si illustra la determinazione dell'azoto nel sodio eparina.

CAMPIONE E PREPARAZIONE CAMPIONE

L'analisi è dimostrata sull'eparina sodica. Una quantità adeguata di eparina sodica viene pesata accuratamente e trasferita in un'ampolla pulita a fondo tondo a 2 colli. Per il processo di digestione vengono aggiunti solfato di sodio, solfato di rame e acido solforico. Il contenuto viene riscaldato delicatamente al di sotto del punto di ebollizione fino a quando la schiuma non cessa. Viene quindi riscaldato di nuovo a una temperatura più elevata fino a quando il contenuto non bolle e la soluzione diventa marrone. Il contenuto viene raffreddato e

viene aggiunta acqua priva di anidride carbonica mescolando accuratamente. La soluzione di idrossido di sodio viene aggiunta attraverso il collo laterale dell'ampolla a fondo tondo. Viene aggiunto zinco granulato e l'ampolla viene collegata immediatamente all'impianto di distillazione dell'azoto Kjeldahl. L'uscita dell'impianto viene messa in una soluzione di acido borico. Si procede alla distillazione fino a trasferire circa l'80% del volume totale nella soluzione di acido borico.

ANALISI

L'analisi viene eseguita automaticamente su un sistema Titrando costituito da un Titrando 905. L'Unitrode viene utilizzato per l'indicazione della curva di titolazione.

Il campione preparato viene titolato potenziometricamente contro acido solforico standardizzato fino a dopo il primo punto di equivalenza.



Figure 1. Esempio di sistema Titrando composto da un Titrando 905 e un Touch Control 900. In alternativa il 905 Titrando può anche essere collegato a un PC e controllato da tiamo.

RISULTATI

Si ottengono curve di titolazione nitide laddove il punto di equivalenza è determinato in modo affidabile dal Touch Control o *tiamo*TM.

Il contenuto di azoto determinato dell'eparina sodica

è 1,581% ($SD(rel) = 1,48\%$, $n = 5$), che rientra nel contenuto di azoto specificato dall'USP (dall'1,3% al 2,5%) per l'eparina sodica.



Figure 2. Curva di titolazione della determinazione di Kjeldahl dell'eparina sodica secondo il capitolo generale USP <461>.

CONCLUSIONE

Questo metodo mostra la possibilità di determinare il contenuto di azoto in vari tipi di campioni in modo automatico, accurato e affidabile mediante titolazione secondo USP <461>.

Oltre all'eparina sodica, con questo metodo possono essere analizzati anche i seguenti composti:

- Antitrombina III Umano
- Betaglucono
- Fosfato di sodio di cellulosa
- Clorofillina rame complesso sodico
- Farina d'avena colloidale
- Copovidone
- Crespovidone
- Dalteparina sodica
- Destrano 1
- Destrina
- diidrossialuminio amminoacetato,
- Enoxaparina sodica ecc.
- Gomma di Guar
- Compresse di mecamilamina cloridrato
- Melfalan
- Dispersione di acetato di polivinile
- Iodio povidone
- Povidone
- Psillio emicellulosa
- Pullulano
- Pantotenato di calcio racemico
- Ralbumina umana
- Derma bovino dell'impalcatura
- Compresse di Spirulina
- Taurina
- tioguanina
- Trealosio
- Crusca di frumento
- Zein

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



905 Titrando

Titratore high-end per la titolazione potenziometrica con un'interfaccia di misura per l'utilizzo con i sistemi di dosaggio Dosino.

- fino a quattro sistemi di dosaggio del tipo 800 Dosino
- titolazione dinamica (DET), monotonica (MET) e titolazione a punto finale (SET)
- Misura con elettrodi iono-selettivi (MEAS CONC)
- Funzioni di dosaggio con monitoraggio, Liquid Handling
- quattro connettori MSB per agitatori o sistemi di dosaggio supplementari
- elettrodi intelligenti "iTrode"
- connettore USB
- Utilizzo con software OMNIS, software *tiamo* o Touch Control
- Conforme ai requisiti GMP/GLP e FDA, nonché 21 CFR Parte 11, se necessario



iUnitrode con Pt1000

Elettrodo per pH combinato intelligente, con chip di memorizzazione integrato per i dati del sensore e sensore di temperatura Pt1000. Questo elettrodo è particolarmente indicato:

- per titolazioni e misure del pH in campioni difficili, viscosi o alcalini
- a temperatura elevata
- per misure a lungo termine

Il diaframma fisso a smeriglio è insensibile allo sporco.

Elettrolita di riferimento: $c(\text{KCl}) = 3 \text{ mol/L}$, conservazione in una soluzione di conservazione.

In alternativa: elettrolita di riferimento per misure a $T > 80^\circ\text{C}$: Idrolyte, conservazione in Idrolyte.

Gli elettrodi iTrode possono essere utilizzati con Titrand, Ti-Touch o con i misuratori 913/914.