

Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl



PanReac 
AppliChem
ITW Reagents

Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl



El método Kjeldahl se utiliza para la determinación del contenido de nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas. Desde hace más de 100 años se está utilizando el método Kjeldahl para la determinación del nitrógeno en una amplia gama de muestras. La determinación del nitrógeno Kjeldahl se realiza en alimentos y bebidas, carne, piensos, cereales y forrajes para el cálculo del contenido en proteína. También se utiliza el método Kjeldahl para la determinación de nitrógeno en aguas residuales, suelos y otras muestras.

Es un método oficial y descrito en múltiples normativas: **AOAC, USEPA, ISO, DIN, Farmacopeas y distintas Directivas Comunitarias.**

El método Kjeldahl consta de tres etapas:



1. Digestión

El objetivo del procedimiento de digestión es romper todos los enlaces de nitrógeno de la muestra y convertir todo el nitrógeno unido orgánicamente en **iones amonio (NH_4^+)**.

El carbono orgánico y el hidrógeno forman dióxido de carbono y agua. En este proceso la materia orgánica se carboniza dando lugar a la formación de una espuma negra. Durante la digestión, la espuma se descompone y finalmente se convierte en un líquido claro que indica que la reacción química ha terminado. Para ello, la muestra se mezcla con **ácido sulfúrico** a temperaturas entre **350 y 380 °C**. Cuánto más alta sea la temperatura, más rápido será el proceso de digestión. La digestión también se puede acelerar con la adición de sales y catalizadores. Se añade **sulfato de potasio** para aumentar el punto de ebullición del ácido sulfúrico y se añaden **catalizadores** para aumentar la velocidad y la eficiencia del procedimiento de digestión. También se pueden añadir agentes oxidantes para mejorar aún más la velocidad.

El tiempo de digestión depende de la estructura química de la muestra, la temperatura, las cantidades de sal sulfato y de catalizador.



Una vez la digestión ha finalizado, se deja enfriar la muestra a temperatura ambiente, se diluye con agua y se trasvasa a la unidad de destilación.

Catalizadores Kjeldahl

Los catalizadores están compuestos por más del 97% de una sal que provoca un aumento en la temperatura de ebullición del ácido sulfúrico y del 1-3% de un tipo de catalizador o una mezcla de catalizadores para aumentar la velocidad y la eficiencia del procedimiento de digestión. Los catalizadores típicos son selenio o sales metálicas de cobre o titanio.

La selección de un determinado catalizador depende de aspectos ecológicos y tóxicos o de razones más prácticas como el tiempo de reacción o la formación de espuma y la pulverización. Por ejemplo, el catalizador que contiene selenio reacciona más rápido pero es tóxico, mientras que un catalizador que contiene cobre es **más seguro para las personas y el medio ambiente**, pero da un proceso de digestión más lento. Un compromiso ideal es el catalizador mixto que consiste en cobre y sulfato de titanio.



Producto	Código	Peso tableta	Envase	Composición					Recomendación
				Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	CuSO ₄ ·5H ₂ O	Se	TiO ₂	
Catalizador Kjeldahl (Cu) (0,3% CuSO ₄ ·5H ₂ O) tabletas	173350.1213	3,5 g	3,5 kg		3,489 g	0,010 g			Catalizador de Missouri. Compatibilidad ambiental debido al bajo contenido de cobre, pero la digestión lleva más tiempo.
	173350.1214	5 g	5 kg		4,985 g	0,015 g			
Catalizador Kjeldahl (Cu) (6,25% CuSO ₄ ·5H ₂ O) tabletas	174428.1211	1 g	1000 g		0,938 g	0,0625 g			
	174428.1246	4 g	4 kg		3,75 g	0,25 g			
Catalizador Kjeldahl (Cu) (9% CuSO ₄ ·5H ₂ O) tabletas	175639.1211	1,65 g	1650 g		1,501 g	0,148 g			Tableta universal. Para aplicaciones micro Kjeldahl se recomiendan tabletas de 1,5 g aprox. Buen rendimiento y bajo impacto en el medio ambiente.
	175639.1214	5 g	5 kg		4,55 g	0,45 g			
Catalizador Kjeldahl (Cu) (10,26% CuSO ₄ ·5H ₂ O) tabletas	177040.1246	4 g	4 kg		3,589 g	0,410 g			
Catalizador Kjeldahl (Cu-Se)(1,5% CuSO ₄ ·5H ₂ O + 2% Se) polvo	172429.1211	-	1000 g		0,965 g	0,015 g	0,02 g		Catalizador de Wieninger. Apropiado para muestras que contienen agua.
Catalizador Kjeldahl (Cu-Se)(1,5% CuSO ₄ ·5H ₂ O + 2% Se) tabletas	172926.1211	1 g	1000 g		0,965 g	0,015 g	0,02 g		Catalizador de Wieninger.
	172926.1213	3,5 g	3,5 kg		3,377 g	0,052 g	0,07 g		
	172926.1214	5 g	5 kg		4,825 g	0,075 g	0,1 g		
Catalizador Kjeldahl (Cu-Se)(9% CuSO ₄ ·5H ₂ O + 0,9% Se) tabletas	175570.1246	4 g	4 kg		3,60 g	0,36 g	0,036 g		
Catalizador Kjeldahl (Cu-TiO ₂) tabletas	173349.1296	3,71 g	3,71 kg	1,75 g	1,75 g	0,104 g		0,104 g	Perfecto equilibrio entre digestión rápida e impacto medioambiental.
	173349.1214	5 g	5 kg	2,358 g	2,358 g	0,1415 g		0,1415 g	
Catalizador Kjeldahl (Se) tabletas	173348.1213	3,5 g	3,5 kg		3,49 g		0,003 g		Digestión rápida, aunque no óptimo para el medioambiente.
	173348.1214	5 g	5 kg		4,99 g		0,005 g		

Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl



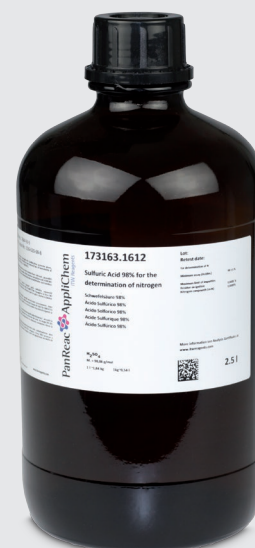
Ácido y oxidante para la digestión

En aplicaciones generales de alimentos y piensos, se utiliza ácido sulfúrico al 98% para las digestiones.

También se pueden añadir agentes oxidantes para mejorar aún más la velocidad. El peróxido de hidrógeno es el más ampliamente utilizado ya que acelera la descomposición del material orgánico y también tiene una acción antiespumante para controlar la formación de espuma durante la digestión. Sin embargo, es extremadamente reactivo y el riesgo de pérdidas de nitrógeno es bastante alto. Si la formación de espuma es el único problema, es mejor usar 1-3 gotas de una emulsión antiespumante comercial.

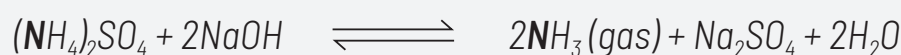
Después de la digestión y antes de la neutralización del ácido sulfúrico con hidróxido sódico concentrado, la muestra se deja enfriar a temperatura ambiente y se diluye con agua destilada para evitar salpicaduras de la muestra. Además, si las muestras se diluyen con 10-20 mL de agua justo después del enfriamiento, se puede evitar la cristalización.

Producto	Código	Envase
Ácido Sulfúrico 98% para determinación de nitrógeno	173163.1611	1000 ml
	173163.1612	2,5 L
	173163.0716	25 L
Hidrógeno Peróxido 30% p/v (100 vol.) para análisis	121076.1211	1000 ml
	121076.1214	5 L
Silicona líquida antiespumante (ORG) grado técnico	211628.1208	100 ml
	211628.1209	250 ml
	211628.1210	500 ml
Agua para análisis, ACS	131074.1211	1000 ml
	131074.1212	2,5 L
	131074.1214	5 L
	131074.1315	10 L



2. Destilación

La muestra ácida se neutraliza por medio de una solución concentrada de hidróxido sódico. Durante el proceso de destilación los iones amonio (NH_4^+) se convierten en amoníaco (NH_3) que es arrastrado al vaso receptor por medio de una corriente de vapor de agua (destilación al vapor).



El vaso receptor para el destilado se llena con una solución absorbente para capturar el gas amoníaco disuelto. La solución absorbente más común es el ácido bórico [$\text{B}(\text{OH})_3$] en solución acuosa al 2-4%. También pueden utilizarse otros ácidos, dosificados con precisión, como el ácido sulfúrico o clorhídrico para capturar el amoníaco en forma de iones amonio solvatados.

El ácido bórico es el método de elección porque permite la automatización.

Álcalis para neutralización y liberación de amoníaco

Producto	Concentración	Código	Envase
Sodio Hidróxido	Lentejas	131687.1210	500 g
		131687.1211	1000 g
		131687.1214	5 kg
		131687.0416	25 kg
	50 % p/v	141571.1214	5 L
	40 % p/v	171220.1211	1000 ml
		171220.1214	5 L
		171220.1315	10 L
		171220.0715	10 L
		171220.0716	25 L
		122666.1211	1000 ml
	32 % p/v	122666.1214	5 L
		176682.1212	2,5 L
	32 % p/v	176682.1214	5 L
		176682.0715	10 L
		176682.0716	25 L



Soluciones para recogida del amoníaco



Producto	Concentración	Código	Envase
Ácido Bórico	1% *	283334.1214	5 L
		283334.0716	25 L
	2%	287096.1214	5 L
		287096.0716	25 L
	3%	282928.1211	1000 ml
	4%	282222.1211	1000 ml
282222.1214		5 L	
Ácido Clorhídrico	0,1 mol/l	181023.1211	1000 ml
		181023.1212	2,5 L
		181023.1214	5 L
	0,5 mol/l	181023.0715	10 L
		181023.1315	10 L
		181022.1211	1000 ml
Ácido Sulfúrico	0,05 mol/l	181022.1214	5 L
		181022.1315	10 L
		181061.1211	1000 ml
	0,1 mol/l	181061.1214	5 L
		181061.1315	10 L
		181061.0716	25 L
0,25 mol/l	182011.1211	1000 ml	
	181060.1211	1000 ml	
	181060.1212	2,5 L	
		181060.1315	10 L

* Contiene 0,00075% de Rojo de Metilo y 0,001% de Verde de Bromocresol como indicadores. Para análisis automáticos.

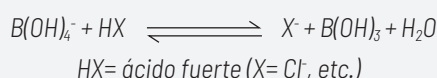
Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl



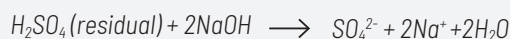
3. Valoración

La concentración de los iones amonio capturados puede determinarse por medio de dos tipos de valoración:

- Cuando se utiliza el ácido bórico como solución absorbente, posteriormente se lleva a cabo una valoración ácido-base utilizando una solución estandarizada de ácido sulfúrico o clorhídrico. El rango de concentración de la solución utilizada varía entre 0,01N a 0,5N dependiendo de la cantidad de iones amonio presentes. La detección del punto final se puede realizar manualmente, con una valoración **colorimétrica**, utilizando una combinación de indicadores. La combinación de indicadores de rojo de metilo y azul de metileno se utiliza con frecuencia en muchos métodos. El punto final de la valoración también se puede determinar potenciométricamente con un **electrodo de pH**. Esta valoración se llama **valoración directa**.



- Cuando se utiliza una solución valorada de ácido sulfúrico como solución absorbente, el ácido sulfúrico residual (es decir, el exceso que no reacciona con NH₃) se valora con una solución estandarizada de hidróxido sódico y la cantidad de amoniaco se calcula por diferencia. El punto final se detecta con un indicador de color, el más utilizado es el rojo de metilo. Esta valoración se llama **valoración indirecta o por retroceso**.



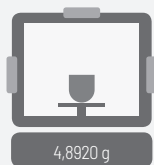
Producto	Concentración	Código	Envase
Valoración directa			
Ácido Clorhídrico	0,1 mol/l	181023.1211	1000 ml
		181023.1212	2,5 L
		181023.1214	5 L
		181023.0715	10 L
		181023.1315	10 L
Ácido Sulfúrico	0,05 mol/l	181061.1211	1000 ml
		181061.1214	5 L
		181061.1315	10 L
		181061.0716	25 L
Indicador Mixto 4,8 (Rojo de Metilo-Verde de Bromocresol) Cambio de color: de rosa violeta a verde esmeralda (pH 4,8-5,5)			
		283303.1609	250 ml
Indicador Mixto Tashiro 4,4 (Rojo de Metilo-Azul de Metileno) Cambio de color: de rojo violeta a verde (pH 4,4-5,8)			
		282430.1609	250 ml
Valoración por retroceso			
Sodio Hidróxido	0,1 mol/l	181693.1211	1000 ml
		181693.1214	5 L
		181693.1315	10 L
Rojo de Metilo solución 0,1% Cambio de color: de rojo a amarillo (pH 4,2-6,2)		281618.1208	100 ml



Consulte nuestra gama completa de soluciones valoradas en www.itwreagents.com

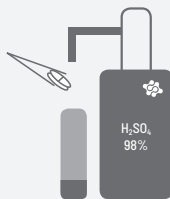
Como **ejemplo**, en las siguientes figuras se detallan los procesos de digestión, destilación y valoración para una **muestra de leche**.

DIGESTIÓN

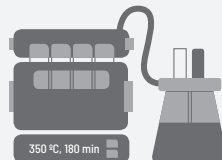


Balanza

- Pesar aprox. 5 g de la muestra homogeneizada.



- Introducir la muestra en un matraz de digestión.
- Añadir 2 tabletas Kjeldahl de 5 g de catalizador de Missouri, 20 ml de Ácido Sulfúrico 98% y homogeneizar suavemente.



Bloque calefactor Scrubber

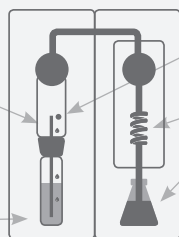
- Colocar la mezcla en la unidad de digestión/calefacción.
- Calentar la mezcla (350 - 380 °C) hasta la aparición de humos blancos y continuar el calentamiento durante 3 h aprox.

- Los vapores de agua y ácido sulfúrico se burbujan a través de una solución de hidróxido de sodio (lavador de gases o scrubber) para ser neutralizados.
- La digestión finaliza cuando la muestra pasa a ser transparente con un ligero color azul.
- Se deja enfriar la muestra y se añaden con precaución 100 ml de agua.
- La muestra es transferida a la unidad de destilación.

DESTILACIÓN

3. Una corriente de vapor de agua se burbujea en la muestra y arrastra el NH₃ formado.

1. Muestra ya digerida con ácido sulfúrico 98%.



Unidad de destilación

2. Se añaden 50 mL de NaOH 50 % para neutralizar el pH y convertir el NH₄⁺ en NH₃.

4. El NH₃ condensa.

5. El NH₃ se captura en 50 ml de ácido bórico al 4 % con indicador de Tashiro. La solución virará de rojo violeta a verde (pH 4,4-5,8). Se recogen aprox. 150 ml de condensado.

VALORACIÓN

• Valorar con HCl 0,25 mol/l hasta que la solución tenga un ligero color violeta.

• Con la concentración y el volumen de HCl gastado en la valoración, se calcula el contenido de nitrógeno y luego el % de proteína en la muestra de leche.

Cálculos

Los cálculos para el % de nitrógeno o de proteína deben tener en cuenta qué tipo de solución receptora se utilizó y qué factores de dilución se usaron durante el proceso de destilación. En las fórmulas siguientes, "N" representa la normalidad. "ml blanco" se refiere a los mililitros de álcali consumidos en la valoración por retroceso de un blanco, si la solución receptora es ácido clorhídrico o ácido sulfúrico estandarizados, o se refiere a mililitros de solución valorada de ácido para titular un blanco si la solución receptora es ácido bórico.

- Cuando se utiliza ácido bórico como solución receptora, la fórmula es:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{ml ácido valorante} - \text{ml blanco}) \times N \text{ del ácido} \times 1,4007}{\text{peso de la muestra en gramos}}$$

- Cuando se utiliza solución valorada de ácido como solución receptora, la fórmula es:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{[(\text{ml ácido valorante} \times N \text{ del ácido}) - (\text{ml blanco} \times N \text{ del álcali})] - (\text{ml del álcali} \times N \text{ del álcali}) \times 1.4007}{\text{peso de la muestra en gramos}}$$

Si se desea determinar el % de proteína en lugar de nitrógeno, el % de N calculado se multiplica por un factor que depende del tipo de proteína presente en la muestra, por ejemplo, para huevos o carnes el factor es 6,25, para productos lácteos es 6,38, para trigo es 5,70, soja y derivados 5,71, etc.

Símbolos de envase



Envase de vidrio



Envase de plástico



Bidón de plástico



Cubo de plástico



Sol-Pack: Envase de plástico con grifo, en caja de cartón (cubitainer)



A173,ES:201907



AppliChem GmbH

Ottoweg 4 · DE-64291 Darmstadt · Germany · Phone +49 6151 9357 0 · Fax +49 6151 9357 11
info.de@itwreagents.com

Nova Chimica Srl

Via G. Galilei, 47 · I-20092 Cinisello Balsamo · (Milano) Italy · Phone +39 02 66045392 · Fax +39 02 66045394
info.it@itwreagents.com

PanReac Química SLU

C/ Garraf 2, Polígono Pla de la Bruguera · E-08211 Castellar del Vallès · (Barcelona) Spain · Phone +34 937 489 400 · Fax +34 937 489 401
info.es@itwreagents.com



www.itwreagents.com