PROMAIZ	METODO VOLUMETRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE NITROGENO KJELDAHL	Código : MQ-PM-033 Revisión : 000 Fecha : 25/03/2015 Página : 1 de 10
Elaborado por: E.Pizarro	Revisado por: A.Greig	Aprobado por: M.Garcia

REVISIONES DEL DOCUMENTO			
Nro. Revisión	**Fecha**	**Motivo de la Revisión**	**Páginas Revisadas/Modificadas**
000	25/03/2015	Original	Todas

DOCUMENTO CONTROLADO
COPIA : ORIGINAL

Elaborado por: Elizabeth Pizarro	**Revisado por:** Anthony Greig	**Aprobado por:** Marta Garcia
Fecha elaboración: 19/03/2015	**Fecha de revisión:** 23/03/2015	**Fecha de aprobación:** 25/03/2015
Firma:	**Firma:**	**Firma:**

1. PRINCIPIO

Las muestras son digeridas con ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador, se produce la conversión de nitrógeno orgánico en amonio sulfato. Una vez digerida la muestra, ésta se alcaliniza. El amoníaco resultante se destila y es determinado por valoración. La proteína se calcula a partir del nitrógeno contenido.

2. ALCANCE

El método se aplica a la determinación de nitrógeno proteico en la alimentación para animales, en jarabes, en azúcares, en almidones y en materias primas. No es aplicable a la determinación del nitrógeno en mezclas que contienen nitratos y nitritos.

3. MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo Buchí Speed Digestor k-425 o equivalente.
- Tubos Digestión Buchí.
- Equipo Buchí destillation unitk-350 o equivalente.
- Balanza Analítica.
- Matraz Erlenmeyer de 500 mL.
- Bureta de 50 mL.
- Molino para muestras.

4. REACTIVOS

- Ácido Sulfúrico concentrado 95-98 %
- Agua destilada.

- Indicador mixto: pesar 0.66 g de Rojo de Metilo en 600 mL de etanol + 0.33 g de Verde de Bromocresol en 10 mL de NaOH 0.1 N. Mezclar los 2 indicadores y aforar a 1 L con etanol. Ajustar a pH 5.2 con NaOH 0.1 N o H_2SO_4 0.1 N.

- Catalizador: mezclar 90 g de K_2SO_4 + 10 g $CuSO_4$ x 5 H_2O, se agregan 2 cucharadas para cada muestra.

- Ácido Sulfúrico, 0.1 N: para la preparación añadir 25 mL de Ácido Sulfúrico concentrado a 75 mL de agua destilada. Diluir 12 mL de esta solución de Ácido Sulfúrico 9 N con agua a 1 L. Estandarizar de modo que 50,0 mL es equivalente a 50,0 mL de 0,1N de Hidróxido de Sodio, utilizando el indicador Rojo de Metilo.

- Hidróxido de sodio Baume 38°: se toman 1200 mL de hidróxido de sodio 50% y se le agregan 800 ml de agua destilada.

- Hidróxido de Sodio, 0,1 N: pesar 4 g de Hidróxido de Sodio y disolver en agua destilada recientemente hervida y fría, aforar a 1 L. Para estandarizar la solución, usar Ftalato de Potasio que debe previamente ser secado durante 2 horas en estufa con vacío a 120 °C, así 40,0 mL de 0,1 N solución NaOH es equivalente a 0,817 g de Ftalato de Potasio seco, disuelto en aproximadamente 50 mL de agua destilada recientemente hervida y fría, usando indicador de Fenolftaleína.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Tabla N°1

Producto	Peso de muestra	mL H_2SO_4 concentrado para digestión	mL de H_2SO_4 en el matraz receptor 0.1 N
Maíz	1.0 g	20	15
Fibra de proceso y torta de aceite	1.0 g	20	25
Agua Pesada y Caramelo	0.5 g	20	25
Gluten Meal	0.5 g	20	40
Almidón Seco	2.5 g	20	10
Urea como Aditivo	0.5 g	20	40
Grits	2.5 g	20	15
Jarabe de maíz, hidrolizado, maltodextrina y dextrina	10.0 g	20	15
Lechada de Almidón total	10 mL	20	10
Lechada de Almidón Soluble	25 mL	20	10

5.2 Preparación de la muestra:

Para el Maíz:

- Se debe pasar a través de un molino que tenga un tamiz de 1 mm.

Para Fibra Húmeda de Maíz:

- Se debe secar a 100°C, por 2 horas aproximadamente, enfriar y moler en molino Retsch, con disco de rotor número 5.

Para Torta de Aceite:

- Se debe moler en molino Retsch, con disco de rotor número 5.

Para el agua Pesada:

- Medir el baume de la muestra a analizar.

Para la Urea como Aditivo:

- Una cantidad de muestra moler en un mortero de porcelana.

Para la Lechada de Almidón y Torta de Almidón:

- Ajustar Baume 15,0 ° con agua destilada, libre de nitrógeno, mezclar y pipetear según Tabla N°1.

5.3. PROCEDIMIENTO:

- Añadir 2 cucharadas de catalizador ($K_2 SO_4$ y $CuSO_4 \times 5 H_2O$ en proporción 9:1) en un tubo de digestión de batería Buchi K-425.
- Pesar, en balanza analítica, la muestra según Tabla N° 1 y transferir al tubo de digestión de batería.

- Adicionar cuidadosamente 20 mL de Ácido Sulfúrico concentrado.
- Colocar la muestra en digestor Buchi K-425, donde se debe calentar en escala de potencia 3, después 6 y finalmente 9, se deja en proceso de digestión por un tiempo aproximado de 2 horas, cuando la muestra del tubo tome un color verde, está completa la digestión y se enfría a temperatura ambiente.
- Agregar 20 mL de agua destilada al tubo que contiene muestra digerida, y enfriar.
- Preparar un matraz erlenmeyer de 500 mL, que contenga Ácido Sulfúrico 0.1N, según Tabla N° 1, agregar 5 gotas de indicador mixto y 180 mL de agua destilada. El matraz se coloca bajo el condensador de destilación.
- Se adiciona, a través del equipo, 50 mL de NaOH a 38 Be°, pulsando el botón "Reagent". Después de esto de aprieta el botón "Start", comienza la destilación y recibe aproximadamente 100 mL de destilado de Amoniaco.
- Titular el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta el punto final, viraje de rosado a verde.
- Registrar gasto de NaOH 0.1 N.
- Por último analizar un blanco de los reactivos, con el mismo procedimiento, pero sin muestra.

Cálculos:

Para muestras generales:

Gasto neto NaOH 0.1 N = Gasto blanco NaOH 0.1 N, mL – Gasto Muestra NaOH 0.1 N, mL

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{\text{Gasto neto NaOH 0.1 N, mL} \times 0.100 \text{ N NaOH} \times 0.014 \times 100}{\text{Peso de muestra, g}}$$

% Proteína = % Nitrógeno x 6,25 (para el maíz y sus derivados)

Para muestra liquidas:

$$\% \text{ Proteína (base seca)} = \frac{\text{Gasto neto NaOH 0.1 N, mL} \times 0.05 \text{ N} \times 0.014 \times 6.25 \times 100}{\text{25 mL de la muestra} \times 0.1909 \text{ g d.s. /mL}}$$

TABLA DE CONVERSION DE BAUME A SUSTANCIA SECA N°2

LECHADA DE ALMIDON		LECHADA DE ALMIDON	
BAUME	S. SECA/100ML	BAUME	S. SECA/100ML
0,0	0,00	13,0	25,38
1,0	1,79	14,0	27,54
2,0	3,60	15,0	29,74
3,0	5,44	16,0	31,96
4,0	7,31	17,0	34,23
5,0	9,21	18,0	36,53
6,0	11,12	19,0	38,86
7,0	13,07	20,0	41,23
8,0	15,05	21,0	43,65
9,0	17,05	22,0	46,09
10,0	19,09	23,0	48,59
11,0	21,16	24,0	51,12
12,0	23,25	25,0	53,70

TABLA DE CONVERSION BAUME Y SUSTANCIA SECA N°3

AGUA PESADA		AGUA PESADA	
BAUME	S. SECA/100ML	BAUME	S. SECA/100ML
2,0	2,94	19	37,93
3,0	4,62	20	40,50
4,0	6,31	21	43,13
5,0	8,05	22	45,83
6,0	9,82	23	48,57
7,0	11,89	24	51,38
8,0	13,96	25	54,25
9,0	16,03	26	57,20
10,0	18,10	27	60,16
11,0	20,16	28	63,19
12,0	22,21	29	66,28
13,0	24,26	30	69,43
14,0	26,34	31	72,64
15,0	28,47	32	75,91
16,0	30,67	33	79,25
17,0	32,95	34	82,65
18,0	35,40	35	86,10

6. NOTAS

- Si la mezcla de digestión se solidifica al enfriarse, puede dar lugar a valores bajos de proteína. Descarte la muestra digerida, repita la digestión con Ácido Sulfúrico más concentrado si es necesario. Un aumento proporcional en el volumen de solución de hidróxido de sodio 38 °Baumé utilizada para la neutralización será requerida.

- Evite usar fuerza excesiva al realizar la conexión hermética para la destilación, puede generar graves daños en el cuello del descanso. Se deberá tener precaución en la mezcla de ácidos y bases fuertes para prevenir la erupción del sobrecalentamiento. Se recomienda encarecidamente usar guantes y protector de seguridad para los ojos.

- Un valor alto de blanco en los reactivos significa que podrían estar los tubos, del condensador, contaminados. Limpie con agua hirviendo puesta en un matraz Kjeldahl unido a la unidad de destilación. Si el blanco sigue siendo alto, comprobar la calidad del agua destilada y los reactivos individualmente.

- Los cálculos son válidos cuando las muestras y los blancos se destilan en idéntica forma e idénticos volúmenes de Ácido Sulfúrico son usados.

- El factor de 6,25 se aplica a los productos derivados del maíz o tapioca. El factor para harina de trigo es de 5,7. La AOAC enumera otros factores de conversión de proteínas. Si aditivos tal como urea se añaden a la muestra, sólo se informa Valor de nitrógeno.

7. REFERENCIAS

- Kane, PF: "Los fertilizantes: nitrógeno (Total) en Fertilizantes, Kjeldahl Método (02/04/03)". Lane, RH: "Los alimentos de Cereales: La proteína en granos, Kjeldahl Método (32.2.03)". Oficial Métodos de Análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales, editado por Patricia Cunniff. 17a Edición. Gaithersburg, MD. 1996.
- La Farmacopea de Estados Unidos. Edición actual. "Pruebas químicas: <461> de nitrógeno Determinación". "La maltodextrina NF Monografía".