

## Comparación entre los Métodos Kjeldahl y Dumas para el Análisis de Proteína

	<b>KJELDAHL</b>	<b>DUMAS</b>
<b>Fundamento del Método</b>	El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en: a) Acido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo, o b) Acido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.	El método se basa en la destrucción de la materia orgánica a través de una combustión en una atmósfera rica en Oxígeno. Todo el producto de la combustión pasa a través de un tamiz molecular conformado por perclorato de magnesio anhidro e hidróxido de sodio en base de tierras raras. Una vez que el tamiz molecular retiene los gases no deseados, el nitrógeno es arrastrado hacia la celda de detección con gas Helio o Argón y es cuantificado por conductividad térmica
<b>Reactivos Necesarios</b>	Ácido sulfúrico concentrado p.a., Sulfato de Potasio o Sodio p.a, Sulfato Cúprico p.a, Solución de Hidróxido de Sodio al 15%, Solución de Ácido Sulfúrico 0.1N, Solución de Hidróxido de Sodio al 30%, Solución de rojo de metilo al 1% en Metanol, Solución de Hidróxido de Sodio al 0.1N, Ácido Bórico al 3%, Indicador de Tashiro, Solución de ácido Clorhídrico 0.1N	Perclorato de Magnesio Anhidro, Hidróxido de Sodio en base de Tierras Raras, Virutas de Cobre e Hierro, Oxígeno pureza 99,99, Helio pureza 99,99 y Aire Comprimido.
<b>Procedimiento</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.- Realizar la muestra en duplicado.</li> <li>2.- Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.</li> <li>3.- Pesar al 0.1 mg. alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl.</li> <li>4.- Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 mL de ácido sulfúrico conc.</li> <li>5.- Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 mL de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Cuando la solución de hidróxido de sodio al 15 % adicionada de fenoltaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora debe ser cambiada (aprox. 3 análisis ).</li> <li>6.- Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. más. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.</li> <li>7.- Enfriar y agregar 200 mL de agua.</li> <li>8.- Conectar el matraz al aparato de</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.- Pesar 1 g de muestra homogeneizada sobre un papel de estaño (tin foil) o cápsula de gel.</li> <li>2.- Doblar el papel de estaño con el objeto de contener la muestra</li> <li>3.- Identificar la muestra en la computadora e ingresar también el peso.</li> <li>4.- Colocar la muestra dentro del horno de combustión y presionar el botón ANALISIS.</li> <li>5.- El resultado de Proteína se mostrará automáticamente en el software del equipo.</li> </ol>

	<p>destilación, agregar lentamente 100 mL de NaOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave.</p> <p>9.- Destilar no menos de 150 mL en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en:</p> <p>a) 50 mL de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 mL de agua destilada. Asegurar un exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para que se pueda realizar la retrotitulación. Titular el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta color amarillo o b) 50 mL de ácido bórico al 3 %. Titular con ácido clorhídrico 0.1 N hasta pH 4.6 mediante un medidor de pH calibrado con soluciones tampón pH 4 y pH 7, o en presencia del indicador de Tashiro hasta pH 4.6.</p> <p>Cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 mL de una solución de sulfato de amonio 0.1 N (6.6077 g/L), 100 mL de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de L(-)-Tirosina</p> <p><b>CALCULO Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS</b></p> $\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$ $\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 1000}$ <p><b>V</b> : 50 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N o gasto de HCl 0.1 N <b>m</b> : masa de la muestra, en gramos <b>factor</b>: 6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general 5.7 : para cereales y derivados de soya, 6.38: leche, 5.55: gelatina, 5.95: arroz</p> <p>Registrar manualmente en la planilla de resultados el método utilizado, identificación de la muestra, peso de muestra, gastos de titulación, factor utilizado y resultados obtenidos de la muestras en duplicado con 2 decimales.</p>	
Tiempo del Ensayo	3 a 6 horas	4 minutos
Residuos Tóxicos	Se deben neutralizar los siguientes ácidos/bases antes de desecharlos: SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> , NaOH, ClH, SO <sub>4</sub> Cu, SO <sub>4</sub> K, BO <sub>3</sub> H <sub>3</sub> , indicadores	No produce desechos que deban neutralizarse.
Seguridad Operativa	Riesgo de quemaduras corrosivas, aspiración de vapores ácidos y quemaduras por derrame de líquidos a alta temperatura	No tiene riesgos operativos