



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

# “DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO EN UNA SUSTANCIA ORGÁNICA”

AUTORÍA MARÍA FRANCISCA OJEDA EGEA
TEMÁTICA QUÍMICA ANALÍTICA, ANÁLISIS DE PROTEÍNAS
ETAPA BACHILLERATO

## Resumen

### Palabras clave

Química Analítica, análisis de proteínas, método de Kjeldahl, determinación nitrógeno, Química de los alimentos..

## 1. INTRODUCCIÓN.

Cuando se calienta un material que contiene proteínas con ácido sulfúrico  $H_2SO_4$  concentrado, en presencia de mercurio Hg que actúa como catalizador para acelerar la reacción, el ácido se reduce gradualmente a dióxido de azufre y agua, mientras que el carbono y el hidrógeno de la sustancia orgánica se oxidan a dióxido de carbono y agua. El nitrógeno de dicha sustancia orgánica se transforma en sulfato amónico.

La cantidad de ion amonio que se ha formado puede determinarse agregando exceso de un hidróxido alcalino a la disolución y destilando el amoniaco formado sobre una disolución contrastada de ácido sulfúrico, y valorando el exceso de ácido.

El porcentaje de proteínas se obtiene multiplicando el porcentaje de nitrógeno por un factor que varía con la naturaleza de la proteína analizada.

El factor por el que hay que multiplicar para determinar la cantidad de proteínas en el caso de la harina de trigo es 5,7.

## 2. FUNDAMENTO.

El procedimiento a estudiar permite determinar el nitrógeno en un numerosos compuestos orgánicos, como pueden ser los aminoácidos, por lo que es útil para determinar nitrógeno de proteínas. Las proteínas



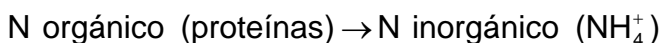
ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

son compuestos presentes en multitud de productos de consumo habitual como harinas, leche, productos cárnicos de todo tipo, etc.

El método empleado para determinar la cantidad de nitrógeno en una muestra orgánica, en concreto se usará una muestra de harina de trigo, consta de tres etapas:

### 2.1. Mineralización de la muestra:

Consiste en destruir la materia orgánica y convertir el nitrógeno orgánico, presente en los aminoácidos de las proteínas, en inorgánico, presente en el ion amonio:

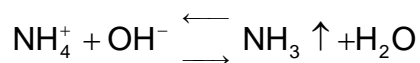


Esto se va a conseguir calentando la muestra orgánica con ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en presencia de sulfato de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , cuyo papel es elevar la temperatura de fusión de la mezcla, y de monóxido de mercurio  $\text{HgO}$ , cuyo papel es actuar como catalizador.

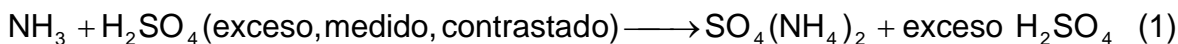
El ácido sulfúrico concentrado es deshidratante y por lo tanto carboniza la materia orgánica, y por otra parte la oxida a monóxido de carbono  $\text{CO}$ .

### 2.2. Destilación del amoniaco:

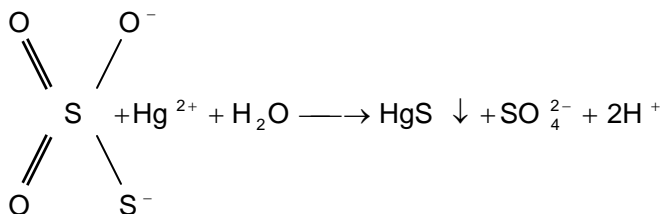
El ion amonio  $\text{NH}_4^+$  es un ácido débil, y reaccionará con una base según el equilibrio:



El amoniaco  $\text{NH}_3$  desprendido en forma de gas se recoge en un exceso medido y contrastado de ácido sulfúrico, de modo que se formará sulfato de amonio  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ :



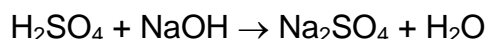
Antes de hacer la destilación es necesario hacer precipitar los iones de mercurio  $\text{Hg}^{2+}$  procedentes del óxido de mercurio que se añadió como catalizador. Para ello se adiciona tiosulfato de sodio  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ . En disolución se disocia el sodio y el ion tiosulfato se descompone en presencia del catión de mercurio, formándose monosulfuro de mercurio  $\text{HgS}$  que es insoluble y precipita.



Es fundamental hacer precipitar el mercurio  $\text{Hg}^{2+}$ , pues en caso contrario no se destilaría todo el amoníaco, ya que el mercurio forma complejos de coordinación amino mercúricos.

### 2.3. Valoración del amoníaco formado:

Para determinar la cantidad de amoníaco formado se realiza una valoración del mismo indirectamente. Se hace por retroceso calorando el exceso de ácido sulfúrico del que se adicionó para que reaccionara con el amoníaco según la reacción (1). Para ello se valora ese ácido sulfúrico en exceso con una disolución de hidróxido de sodio de normalidad conocida, usando como indicador uno que cambie de color en un medio ligeramente ácido, como por ejemplo el cloruro de metilo.



El medio será ligeramente ácido porque en el punto de equivalencia, al final de la neutralización del ácido sulfúrico con el hidróxido de sodio existe sulfato amónico, que se hidroliza y proporciona un pH aproximado de 5.

Conocido los equivalentes de hidróxido que neutralizan el exceso de ácido, se tiene el número de equivalentes de amoníaco:

$$\begin{aligned} \text{n}^\circ \text{ equivalentes } \text{NH}_3 &= \text{n}^\circ \text{ equivalentes } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ reaccionan en (1) =} \\ &= \text{n}^\circ \text{ equivalentes totales añadidos en (1) de } \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{n}^\circ \text{ equivalentes en exceso en (1) de } \text{H}_2\text{SO}_4 = \\ &= \text{n}^\circ \text{ equivalentes totales añadidos en (1) de } \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{n}^\circ \text{ equivalentes neutralizados con el NaOH} \end{aligned}$$

### 3. MATERIALES.

- Soporte con anillo y pinza.
- Matraz de Kjeldahl de 300 mL.
- Aparato de destilación con matraz de 500 mL.
- Mechero, trípode, varilla.
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Bureta de 50 mL.
- Pipetas de 25 y 50 mL.
- Probeta de 100 mL.

### 4. REACTIVOS.

- Sulfato de sodio anhidro  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .
- Monóxido de mercurio  $\text{HgO}$ .



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

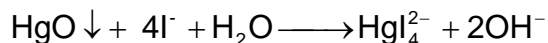
- Disolución de ácido sulfúrico concentrado  $H_2SO_4$ .
- Disolución de tiosulfato de sodio  $Na_2S_2O_3$  al 5%.
- Zinc granalla.
- Disolución de hidróxido de sodio NaOH al 50%.
- Disolución de ácido sulfúrico de normalidad 0,2 N.
- Disolución de hidróxido de sodio de normalidad 0,2 N.
- Rojo de metilo.
- Indicador Shiro Tashiro.
- Fenolftaleína.

## 5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Previamente al proceso en sí, es necesario contrastar dos disoluciones que se usarán para hacer una valoración posteriormente.

a) Primer se contrastará la disolución de ácido sulfúrico 0,2 N a emplear usando un patrón primario como el monóxido de mercurio.

Para ello se pesan en un granatario unos 4 gramos de yoduro de potasio KI y se introducen en un erlenmeyer. Se agregan  $50\text{ cm}^3$  de agua destilada y una vez disuelto se añade una cantidad exactamente pesada de alrededor de 0,3 gramos de monóxido de mercurio HgO y se agita nuevamente hasta su total disolución. El proceso que tiene lugar, al disociarse el yoduro de potasio, es:



El peso equivalente del monóxido de mercurio HgO, teniendo en cuenta que se desprenden dos grupos hidroxilo es:

$$\text{Peso equivalente HgO} = \text{masa molar HgO} / 2 = 216,6 \text{ g} / 2 \text{ eq} = 108,3 \text{ g/eq}$$

Los equivalentes de monóxido de mercurio son  $0,3 \text{ g} / 108,3 \text{ g/eq} = 2,77 \cdot 10^{-3}$  equivalentes

Como el volumen total de disolución es 0,05 L, la normalidad del monóxido de mercurio será: 0,0554 N.

Para poder hacer la valoración y saber cuando finaliza se añaden 3 ó 4 gotas de fenolftaleína y se valora con el ácido a contrastar.

b) Posteriormente, se usará esta disolución de ácido para contrastar a su vez una disolución de hidróxido de sodio 0,2 N.

Se toman con una pipeta de 25 cm<sup>3</sup> de la disolución de hidróxido a valorar y se introducen en un erlenmeyer. Se agregan unos 50 cm<sup>3</sup> de agua, 3 ó 4 gotas de rojo de metilo como indicador y se valora lentamente con la disolución contrastada de ácido sulfúrico 0,2 N.

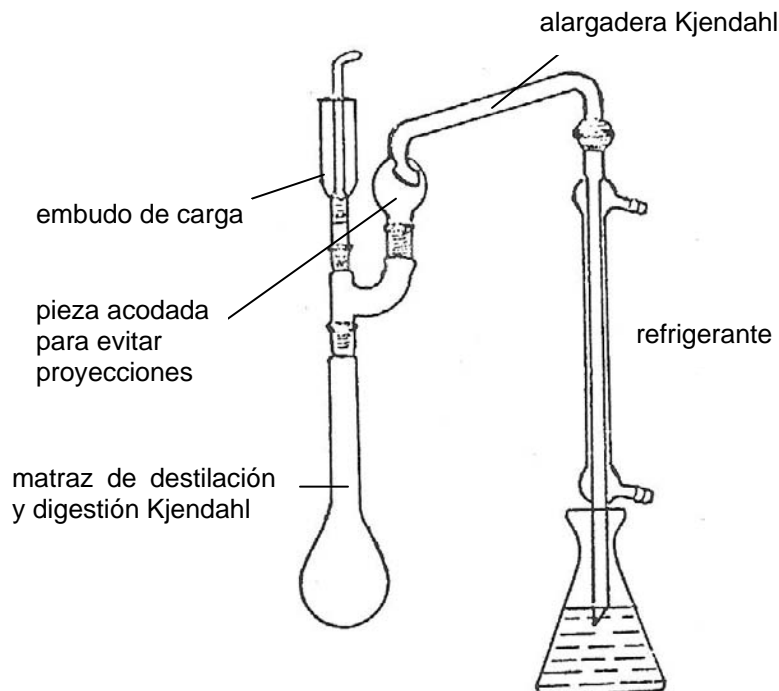
### 5.1. Mineralización de la muestra:

Se pesan 2 gramos de la muestra de harina cuya cantidad de proteínas se quiere estudiar. El resultado exacto de la masa de harina fue 2,015 g. Usando papel de filtro se hace con la muestra un pequeño paquete que se introduce en el matraz de Kjeldahl seco. Se transfiere al balón aproximadamente 8 gramos de sulfato de sodio anhidro y entre 0,6 y 0,8 de monóxido de mercurio que se usa como catalizador.

Se vierten 20 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico concentrado, de forma que arrastren las posibles partículas que hayan quedado adheridas al cuello.

Sosteniendo el matraz en una posición inclinada sobre un soporte con anillo, colocado en una vitrina, se calienta el contenido con una llama pequeña. Al principio la mezcla forma espuma y se ennegrece. Cuando la espuma comienza a formarse con menos vigor, a medida que progresa la digestión, el primitivo color negro se desvanece o queda marrón, y finalmente la disolución queda incolora o ligeramente amarillenta.

Se prosigue el calentamiento durante 15 minutos, luego se retira la llama y se deja enfriar.





ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

## 5.2. Destilación del amoniaco:

Se va a utilizar la disolución 0,2 N de ácido sulfúrico  $H_2SO_4$ , previamente contrastada con monóxido de mercurio  $HgO$ .

Sobre un matraz erlenmeyer de 250 mL se pipetea 50 mL de la disolución 0,2 N de ácido sulfúrico exactamente medidos, que ya contrastada resulta tener normalidad 0,192 N.

Se monta un aparato de destilación, de modo que el extremo inferior del tubo refrigerante esté introducido en la disolución 0,2 N de ácido sulfúrico contenida en el erlenmeyer.

Una vez que el matraz se ha enfriado, que haya bajado de los  $50^{\circ}C$ , se agregan cuidadosamente unos  $150\text{ cm}^3$  de agua y se agita hasta que se disuelve completamente todo el material sólido. Se enfría la disolución a temperatura ambiente en el grifo y se agregan  $10\text{ cm}^3$  de la disolución de tiosulfato de sodio al 5%.

A continuación se añade 1 gramo de granalla de zinc y se vierten rápidamente  $85\text{ cm}^3$  de una disolución fría de hidróxido de sodio al 40%, e inmediatamente se conecta el balón con el resto del aparato de destilación.

El contenido del matraz se calienta de modo que entre en ebullición rápidamente y luego se regule la llama para que hierva de forma continua pero no demasiado deprisa. El erlenmeyer colector se debe vigilar cuidadosamente durante la destilación, porque una parte del ácido que contiene tiende a ser aspirado hacia el refrigerante. Se reduce este peligro llevando a ebullición el líquido del balón lo más rápidamente posible, y acomodando el erlenmeyer de modo que sólo el extremo de la alargadera se sumerja en la disolución.

Se prosigue la destilación hasta que se han destilado casi los dos tercios del líquido. Entonces se baja el erlenmeyer de modo que la alargadera del refrigerante queda fuera y se retira la llama del balón. Es importante realizar estas acciones en el orden especificado.

## 5.3. Valoración del exceso de ácido sulfúrico:

Se va a utilizar la disolución 0,2 N de hidróxido de sodio  $NaOH$ , por lo que es necesario contrastarla previamente. Para valorarla se puede usar la disolución de ácido sulfúrico 0,2 N, que se contrastó anteriormente con el monóxido de mercurio  $HgO$ .

Se retira el erlenmeyer y se enjuaga el interior con agua, de modo que se arrastren todas las pequeñas gotas de las paredes. Se agregan unas gotas de indicador Shiro Tashiro y se valora con la disolución 0,2 N de hidróxido de sodio previamente contrastada.

El indicador Shiro Tashiro se prepara disolviendo 70 mg de rojo de metilo y 9 mg de azul de metileno en  $50\text{ cm}^3$  de etanol del 95%.

## 6. TRATAMIENTO DE DATOS.

1.- Contraste de la disolución de ácido sulfúrico  $H_2SO_4$  con monóxido de mercurio.

C/ Recogidas Nº 45 - 6ªA 18005 Granada [csifrevistad@gmail.com](mailto:csifrevistad@gmail.com)

ISSN 1988-6047    DEP. LEGAL: GR 2922/2007    Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

Se toma los 50 mL de disolución de monóxido de mercurio donde hay presentes 0,3 g de HgO. Como su peso equivalente es 108,3 g/eq, la normalidad es 0,0554 N.

En el punto final de la valoración, se han consumido 14,4 mL de la disolución de hidróxido de sodio. Como en la valoración se consumen los mismos equivalentes de los dos reactivos:

$$V_{\text{HgO}} \cdot N_{\text{HgO}} = V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot N_{\text{H}_2\text{SO}_4}$$

$$N_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \frac{V_{\text{HgO}} \cdot N_{\text{HgO}}}{V_{\text{H}_2\text{SO}_4}} = \frac{50 \text{ mL} \cdot 0,0554 \text{ N}}{14,4 \text{ mL}} = 0,192\text{N}$$

2.- Contraste de la disolución de hidróxido de sodio NaOH con la disolución 0,2 N de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> contrastada con anterioridad.

Se toman 20 mL de disolución de ácido sulfúrico cuya normalidad contrastada es 0,192 N.

En el punto final de la valoración, se han consumido 19,7 mL de la disolución de hidróxido de sodio. Como en la valoración se consumen los mismos equivalentes de los dos reactivos:

$$V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot N_{\text{H}_2\text{SO}_4} = V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}}$$

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot N_{\text{H}_2\text{SO}_4}}{V_{\text{NaOH}}} = \frac{20 \text{ mL} \cdot 0,192 \text{ N}}{19,7 \text{ mL}} = 0,195\text{N}$$

3.- A parte de los procesos de contraste de las disoluciones a emplear en las valoraciones, la única medida es la correspondiente a la valoración del exceso de ácido sulfúrico que reaccionó con el amoníaco que contiene todo el nitrógeno que había en la muestra orgánica:



nº equivalentes NH<sub>3</sub> = nº equivalentes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaccionan en (1) =

= nº equivalentes totales añadidos en (1) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – nº equivalentes en exceso en (1) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> =

= nº equivalentes totales añadidos en (1) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – nº equivalentes neutralizados con el NaOH

Se tomó, para tener exceso de ácido, un total de 40 mL de disolución contrastada de ácido sulfúrico 0,2 N (0,192 N). Se añadieron sobre el amoníaco, que se consumió por completo.

Por tanto, el total de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> que se tomó fue:

$$0,192 \text{ N} \cdot 40,0 \cdot 10^{-3} \text{ L} = 7,68 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes de H}_2\text{SO}_4 \text{ totales añadidos}$$

El volumen consumido de hidróxido de sodio NaOH 0,2 N contrastado (0,195 N) al valorar el exceso de ácido sulfúrico fue 27,3 mL.

Así, el exceso de ácido fue:

$$0,195 \text{ N} \cdot 27,3 \cdot 10^{-3} \text{ L} = 5,32 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes de NaOH} = 5,32 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes de H}_2\text{SO}_4 \text{ en exceso}$$



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 34 SEPTIEMBRE DE 2010

Por tanto, los equivalentes de amoníaco presentes en la muestra

$$\begin{aligned} n^{\circ} \text{ equivalentes NH}_3 &= n^{\circ} \text{ equivalentes H}_2\text{SO}_4 \text{ reaccionan en (1)} = \\ &= n^{\circ} \text{ equivalentes totales añadidos en (1) de H}_2\text{SO}_4 - n^{\circ} \text{ equivalentes en exceso en (1) de H}_2\text{SO}_4 = \\ &= 7,68 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes} - 5,32 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes} = 2,36 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes} \end{aligned}$$

$$\boxed{n^{\circ} \text{ equivalentes NH}_3 = 2,36 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes}}$$

Para calcular la masa de nitrógeno presente en la muestra orgánica tenemos en cuenta que el peso equivalente del amoníaco  $\text{NH}_3$  es 14 g/eq:

$$\text{Masa de nitrógeno orgánico} = 14 \text{ g/eq} \cdot 2,36 \cdot 10^{-3} \text{ equivalentes} = 3,304 \cdot 10^{-2} \text{ gramos de N}$$

Esta masa de nitrógeno es la que estaba presente en la masa de harina tomada, que fue de 2,015 gramos, por lo que el porcentaje que representa la masa de nitrógeno es:

$$\%N \text{ en la harina} = \frac{3,304 \cdot 10^{-2} \text{ gramos N}}{2,014 \text{ gramos harina}} \cdot 100 = 1,64\%$$

En la harina, según bibliografía, para tener el porcentaje de proteínas presentes en la harina hay que multiplicar el porcentaje de nitrógeno por 5,7.

Este factor procede de que en cada proteína de la harina de trigo se ha determinado que hay un 17,54% de nitrógeno: por cada 100 g de proteína se tienen 17,54 gramos de nitrógeno. Así, se puede expresar la relación inversa, gramos de proteína/gramos de nitrógeno:

$$100 \text{ gramos proteína} / 17,54 \text{ gramos de nitrógeno} = 5,7 \text{ gramos proteína} / \text{gramos nitrógeno}$$

Si se tiene 1,64 gramos de nitrógeno en 100 gramos de harina sabremos la masa de proteínas presente en los 100 gramos de muestra de harina de trigo, multiplicando el factor especificado por el porcentaje de nitrógeno presente en la muestra:

$$\% \text{ proteínas en la harina} = 5,7 \frac{\text{g proteínas}}{\text{g nitrógeno}} \times 1,64 \frac{\text{g nitrógeno}}{100 \text{ g muestra}} = 9,35 \frac{\text{g proteína}}{100 \text{ g muestra}} = 9,35\%$$

$$\boxed{\% \text{ proteínas en la harina} = 5,7 \times 1,64\% = 9,35\%}$$

## 7. RESULTADOS

Se ha obtenido el porcentaje de proteínas en una harina de trigo, con un método laborioso en la ejecución pero sencillo en los cálculos y reacciones químicas.

Este mismo método puede emplearse en otras muestras orgánicas. Sólo se necesita tener en cada caso el porcentaje de nitrógeno presente en las proteínas de la materia orgánica en cuestión, con lo





ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 SEPTIEMBRE DE 2010

que, haciendo el inverso y multiplicando por 100, se tiene el factor que permite pasar de % de nitrógeno en la muestra a % de proteínas en la muestra.

Por ejemplo, un filete de ternera tiene un porcentaje de proteínas del 21% (factor 4,76), el cordero un 18% (factor 5,56), pechuga de pavo 22% (4,55), queso de oveja 28% (3,57)...

## BIBLIOGRAFÍA.

- Gutiérrez, E. (1989). *“Química inorgánica”*. Barcelona: Reverté.
- Skogg, D., West, D., Holler, J., Crouch, S. (2000). *“Química analítica”*. México: McGrawHill.
- Rodríguez, J.J. (2006). *“Química y Análisis Químico”*. Barcelona: Ceysa.
- Higson, S. (2007). *“Química analítica”*. México: McGraw-Hill.
- Miller, J. (2004). *“Estadística y quimiometría para química analítica”*. Madrid: Prentice-Hall.
- Harvey, D. (2002). *“Química analítica moderna”*. Madrid: McGraw-Hill.
- Rubinson, K., Rubinson, J. (2000). *“Química analítica contemporánea”*. México: Prentice Hall International.
- Bermejo, F. (1991). *“Química analítica general, cuantitativa e instrumental”*. Madrid: Paraninfo.
- Day, R. (1989). *“Química analítica cuantitativa”*. México: Prentice Hall International.
- Fritz, J., Schenk, G. (1979). *“Química analítica cuantitativa”*. México, D.F.: Limusa.

## Autoría

---

- Nombre y Apellidos: María Francisca Ojeda Egea.
- Centro, localidad, provincia: IES Ángel Ganivet, Granada (Granada).
- E-mail: francisojedaegea@gmail.com