

Vidéo « Méthode de Kjeldahl – Démonstration »

Temps	Texte
00 :09	Première étape, vous allez préparer votre échantillon. Vous allez utiliser de l'acide sulfurique concentré, donc pensez à bien travailler sous une sorbonne, mettez les gants de protection adaptés, qui résistent aux acides forts, et pensez à mettre vos lunettes de sécurité.
00 :30	Vous allez peser votre échantillon. S'il s'agit d'un échantillon liquide, vous le pesez directement dans un bécher ; si c'est un échantillon solide ou partiellement solide, vous le broyez préalablement, dans le broyeur adapté en fonction du type d'échantillon, puis vous transvasez cet échantillon dans le tube de minéralisation qui sera directement utilisé pour la seconde étape.
00 :53	Afin de transformer les protéines, vous allez au cours de cette opération de préparation, rajouter un catalyseur de Kjeldahl qui va permettre d'accélérer la réaction de minéralisation.
01 :06	Pour éviter qu'il y ait formation de mousse au cours de l'étape suivante de minéralisation, vous allez ajouter un comprimé d'antimousse qui va permettre d'éviter ce phénomène.
01 :18	Enfin, vous terminez avec grande précaution, en ajoutant dans votre tube de Kjeldahl 10 mL d'acide sulfurique concentré.
01 :48	Vous placez ensuite votre tube dans le support de minéralisation puis vous amenez votre échantillon vers le minéralisateur.
02 :02	Après avoir préparé votre échantillon, vous venez le placer dans le minéralisateur. Vous le déposez dans le bloc de minéralisation. Vous vous assurez qu'il y a autant d'échantillons que de places dans ce bloc, vous placez le collecteur de fumées sur vos tubes en vérifiant que le système est bien hermétiquement fermé afin de collecter les fumées qui vont se former au cours de la phase de minéralisation.
02 :27	Vous allumez le collecteur de fumée et vous ouvrez l'eau.
02 :33	Vous êtes maintenant prêt à lancer votre minéralisation. Vous mettez le minéralisateur sur « ON », vous placez la température à 150 °C de façon à faire monter progressivement la température dans votre échantillon. Au bout d'une dizaine de minutes, vous augmentez la température à 250 °C. Là encore, vous laissez l'échantillon une dizaine de minutes et enfin, vous augmentez à la température de minéralisation qui sera retenue, donc 350 °C, et vous laissez vos échantillons minéraliser pendant 5 heures.
03 :07	Pensez à surveiller régulièrement qu'il n'y pas de problèmes dans la manipulation.
03 :11	Au bout de 5 heures, un signal sonore vous informera que la minéralisation est terminée. Vous pouvez à ce moment-là venir éteindre votre système. En revanche, vous laissez en fonctionnement le collecteur de fumées et l'eau de façon à laisser refroidir le système pendant 30 minutes à 1 heure.
03 :33	Quand votre système a refroidi, vous arrêtez l'eau. Vous enlevez le support de minéralisation et vous récupérez votre échantillon.
03 :52	L'échantillon est maintenant minéralisé, l'azote protéique est passé sous forme azote minéral et on récupère donc cet azote sous forme de sulfate d'ammonium. L'objectif de cette étape de distillation va être de faire passer votre azote de la forme NH_4^+ à la forme NH_3 .
04 :12	Pour cela, vous placez votre échantillon dans le distillateur en faisant attention à ce que votre système soit bien hermétique. Donc bloquez bien ici en surface du tube.
04 :24	On va ensuite délivrer de la soude dans l'échantillon. Cette soude va faire passer votre NH_4^+ sous forme NH_3 . Vous aurez les vapeurs d'ammoniac qui seront recondensées au niveau de ce serpentín et l'ammoniac obtenu sera piégé dans cet erlenmeyer qui contient 25 mL d'acide chlorhydrique 0,1 mol/L, du rouge de méthyle qui nous sera utile pour le dosage, et également 10 mL d'eau de façon à ce que le tube, qui se situe ici, plonge bien dans la solution d'acide chlorhydrique de façon à ce que l'on n'ait pas une

Vidéo « Méthode de Kjeldahl – Démonstration »

	partie des vapeurs d'ammoniac qui puisse s'échapper.
05 :02	Avant de lancer cette étape de distillation, il est important de vérifier qu'il y a de la soude prête à être dispensée dans le système. Donc sur le côté de l'appareil, vous vérifiez que le bidon a un niveau suffisamment rempli. Et pour que vous ayez un refroidissement au niveau du serpent, vous ouvrez le robinet d'eau qui se mettra en route au moment de la phase de distillation.
05 :27	Ensuite, vous fermez la porte devant l'appareil puis vous pouvez mettre votre appareil en fonctionnement.
05 :36	Pour dispenser les 50 mL de soude qui vont être nécessaires pour cette distillation, vous appuyez sur le curseur soude, et vous aurez ici exactement 50 mL qui seront délivrés.
05 :53	Pour lancer l'étape de distillation, vous appuyez sur le bouton vapeur (« steam ») qui va lancer le chauffage du système.
06 :13	Au signal sonore, la distillation s'arrête, on peut ouvrir la porte mais on laisse refroidir le système avant de prendre les échantillons.
06 :26	Donc là, votre ammoniac se trouve piégé sous la forme NH_4^+ et l'objectif, ensuite, sera de doser l'acide chlorhydrique en excès qui n'a pas servi à piéger l'ammoniac. Vous ferez ce dosage par un titrage par de la soude à 0,1 mol/L également.
06 :45	Quelques minutes plus tard, après refroidissement, vous récupérez votre erlenmeyer et comme expliqué précédemment, vous allez doser l'HCl en excès. Lorsque le tube de minéralisation est froid, vous allez jeter son contenu dans le bidon qui contient les bases et qui sera éliminé.
07 :06	Vous réalisez le titrage de l'HCl en excès par de la soude 0,1 mol/L que vous avez mise préalablement dans la burette. Ensuite, vous faites couler goutte à goutte la soude.
07 :33	Vous constatez que vous avez un virage de votre indicateur, le rouge de méthyle, donc tout l'HCl a été neutralisé par de la soude, il vous reste de l'eau et du NaCl.
07 :46	De cette manière, vous connaissez la quantité d'HCl en excès qui n'avait pas servi à piéger de l'ammoniac. Par ailleurs, vous réalisez un échantillon avec un blanc dans lequel vous n'avez pas mis le produit, que vous avez mis également à distiller préalablement, puis vous faites le dosage de l'HCl total, et par différence, le blanc moins l'échantillon, ça vous donnera la quantité d'HCl qui a réagi et qui est directement proportionnelle à la quantité d'ammoniac piégée, donc à la quantité d'azote présente dans votre échantillon.