

## دستگاه هضم کجدال (Kjeldahl Digestion System)

دستگاه هضم کجدال بخش اول از سیستم سه بخشی روش کجدال برای اندازه گیری نیتروژن و پروتئین است. در این مرحله، نمونه با اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیست حرارت داده می شود تا پیوندهای آلی شکسته شده و نیتروژن موجود به سولفات آمونیوم تبدیل گردد.

### ۱. اصول عملکرد (Working Principle)

روش کجدال شامل سه مرحله اصلی است: هضم (Digestion)، تقطیر (Distillation) و تیتراسیون (Titration). دستگاه هضم وظیفه انجام مرحله اول را بر عهده دارد که زمان برترین مرحله تحلیل است.

#### واکنش اصلی هضم:

- نمونه حاوی نیتروژن آلی  $H_2SO_4$  + غلیظ + حرارت (۳۸۰-۴۲۰ درجه سانتی گراد)  $(NH_4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$  →
- در این فرآیند، اسید سولفوریک پیوندهای پلی پپتیدی را شکسته و نیتروژن آلی را به یون آمونیوم ( $NH_4^+$ ) تبدیل می کند که به صورت سولفات آمونیوم در محیط باقی می ماند.

### ۲. اجزای اصلی دستگاه

جزء	عملکرد
بلوک گرمایشی (Heating Block)	المنت های گرمایشی (آلومینیومی یا گرافیتی) که حرارت یکنواخت تا ۴۵۰ درجه سانتی گراد ایجاد می کنند
لوله های هضم (Digestion Tubes)	لوله های شیشه ای مخصوص مقاوم به حرارت و اسید (معمولاً ۱۰۰، ۲۵۰ یا ۴۰۰ میلی لیتر)
سیستم استخراج دود (Fume Extraction)	هود یا سیستم مکنده برای حذف گازهای سمی حاصل از هضم ( $SO_2$ )، ( $SO_3$ )
کنترلر دما (Temperature Controller)	تنظیم و پایش دقیق دمای بلوک گرمایشی
قفسه حمل لوله (Tube Rack)	برای جابجایی ایمن لوله های داغ

### ۳. کاتالیست ها (Catalysts)

کاتالیست‌ها سرعت واکنش هضم را افزایش می‌دهند و به صورت قرص‌های آماده (Kjeldahl Tablets) عرضه می‌شوند:

نوع کاتالیست	ترکیبات	کاربرد
سلنیوم (Selenium)	$K_2SO_4 + Se$	واکنش بسیار سریع، مناسب برای نمونه‌های مقاوم مانند چربی‌ها و روغن‌ها
مس (Copper)	$K_2SO_4 + CuSO_4$	کندتر اما سازگار با محیط زیست
تیتانیوم (Titanium)	$K_2SO_4 + TiO_2 + CuSO_4$	ترکیب مدرن و سریع
ضد کف (Antifoam)	$Na_2SO_4 +$ سیلیکون	جلوگیری از کف کردن در نمونه‌های چرب

نکته: سولفات پتاسیم ( $K_2SO_4$ ) نقطه جوش اسید سولفوریک را افزایش می‌دهد و فرآیند هضم را تسریع می‌کند.

## ۴. روش کار گام به گام (Step-by-Step Procedure)

مرحله ۰: ایمنی – بسیار حیاتی

خطر	نکته ایمنی
گازهای سمی ( $SO_2$ )، ( $SO_3$ )	هضم حتماً در زیر هود شیمیایی با سیستم استخراج فعال انجام شود
اسید سولفوریک غلیظ	خورنده و خطرناک – از عینک ایمنی، دستکش مقاوم به اسید و روپوش استفاده کنید
حرارت بسیار بالا) تا $450^{\circ}C$	هنگام جابجایی لوله‌های داغ از دستکش ضد حرارت استفاده کنید
فوران ناگهانی (Bumping)	افزودن چند تکه شیشه جوش (Boiling Chips) یا آنتیفوم ضروری است
حضور فرد دیگر در آزمایشگاه	به ویژه هنگام کار با روش کج‌دال، فرد دیگری در آزمایشگاه حضور داشته باشد

تجهیزات حفاظت فردی اجباری:

- ✓ عینک ایمنی (نه فقط عینک معمولی) + محافظ صورت (Face Shield) توصیه می‌شود
- ✓ دستکش مقاوم به اسید و حرارت
- ✓ روپوش آزمایشگاهی آستین بلند
- ✓ پیش‌بند مقاوم به اسید (Apron)
- ✓ کفش بسته

مرحله ۱: آماده‌سازی نمونه (Sample Preparation)

نوع نمونه	روش آماده‌سازی
جامد	آسیاب کنید تا اندازه ذرات $< 1$ میلی‌متر شود. ۳-۱ گرم نمونه را توزین کنید
مایع	حجم مشخص (حداکثر ۲۰ میلی‌لیتر) را با پیپت اندازه بگیرید. برای نمونه‌های گازدار، ابتدا $CO_2$ را خارج کنید
خاک و لجن	۰٫۱-۱٫۰ گرم نمونه (۰٫۱ گرم برای خاک خشک، ۱٫۰ گرم برای لجن)

نکته مهم: نمونه‌های مرطوب و تر برای هضم کجلدال ترجیح داده می‌شوند، زیرا خشک کردن باعث از دست رفتن نمک‌های آمونیومی می‌شود.

مرحله ۲: آماده‌سازی لوله‌های هضم

تمیزکاری لوله‌ها (بسیار حیاتی – آلودگی شیشه‌ای مشکل بزرگ روش کجلدال است):

۱. لوله‌ها را بلافاصله پس از استفاده بشویید (اجازه ندهید باقیمانده هضم در لوله بماند)
۲. به مدت حداقل ۳۰ دقیقه در اسید کلریدریک ۱:۱ خیس کنید
۳. با آب دیونیزه (DI) کاملاً آبکشی کنید

بارگذاری لوله‌ها:

۱. لوله هضم تمیز را در قفسه مخصوص قرار دهید
  ۲. نمونه توزین شده را به لوله منتقل کنید
  ۳. مواد زیر را به لوله اضافه کنید:
- ۲ عدد قرص کجلدال (Kjeldahl Tablet) حاوی کاتالیست
  - ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ  $(\text{H}_2\text{SO}_4)$  ۹۸٪-۹۰٪
  - ۲-۴ عدد تکه شیشه جوش - (Boiling Chips) برای جلوگیری از جوشش ناگهانی - بسیار مهم
  - در صورت نیاز، چند قطره آنتیفوم (برای نمونه‌های چرب)

مرحله ۳: راه‌اندازی و اجرای هضم (Digestion Run)

دمای هضم بر اساس روش استاندارد:

مرحله	دما	زمان	توضیح
پیش‌گرمایش	---	تا رسیدن به دما	حدود ۱ ساعت برای بلوک ۴۰۰ درجه
گرمایش اولیه	۱۶۰-۱۵۰°C	۱,۵ ساعت	جلوگیری از کف کردن شدید
افزایش دما	۲۵۰°C	۱۰ دقیقه	افزایش تدریجی
دمای نهایی	۴۲۰-۳۵۰°C	۱۰ دقیقه دیگر + حداقل ۲ ساعت	بسته به روش
هضم کامل	۴۲۰-۳۸۰°C	حداقل ۲ ساعت (تا ۵ ساعت)	بسته به نوع نمونه

دستورالعمل کامل هضم:

۱. بلوک هضم را روشن کنید و دما را روی ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم کنید
۲. لوله‌ها را در بلوک قرار دهید - مطمئن شوید سیستم استخراج دود به درستی متصل است

۳. اجازه دهید ۱,۵ ساعت در ۱۶۰ درجه بماند - این مرحله از کف کردن شدید جلوگیری می‌کند
۴. دما را به ۳۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش دهید و ۳۰ دقیقه نگه دارید
۵. در روش‌های دیگر:
  - بعد از ۱۰ دقیقه در ۱۵۰ درجه، دما را به ۲۵۰ درجه برسانید
  - پس از ۱۰ دقیقه دیگر، دما را به ۳۵۰-۴۲۰ درجه برسانید
۶. هضم را ادامه دهید تا محلول شفاف و بی‌رنگ شود
۷. لوله‌ها را از بلوک خارج کنید (با دستکش ضد حرارت)
۸. اجازه دهید ۲۰-۱۰ دقیقه خنک شوند

#### مرحله ۴: رقیق‌سازی پس از هضم

۱. پس از خنک شدن، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به هر لوله اضافه کنید
  ۲. به شدت ورتکس کنید (۱۵ ثانیه)
  ۳. محتویات را به یک لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری برچسب‌خورده منتقل کنید
  ۴. ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافی اضافه کنید و دوباره ورتکس کنید
  ۵. با آب دیونیزه به حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر برسانید
  ۶. لوله‌ها را خوب تکان دهید و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) تا زمان تقطیر نگهداری کنید
- نکته: اگر نمونه‌ها بیش از ۱۰ دقیقه قبل از رسیدن به حجم نهایی بمانند، باید ۶۰-۴۵ ثانیه ورتکس شوند تا اختلاط کامل شود.

#### مرحله ۵: علائم هضم ناقص و کامل

وضعیت	ظاهر محلول	اقدام لازم
هضم کامل	شفاف، بی‌رنگ تا سبز بسیار روشن (بسته به کاتالیست)	ادامه دهید به مرحله تقطیر
هضم ناقص	قهوه‌ای تیره تا سیاه (رسوبات کربنی)	هضم ناموفق - نمونه باید دوباره آماده شود

### ۵. عیب‌یابی مشکلات رایج (Troubleshooting)

مشکل	علت احتمالی	راه حل
نمونه سیاه/قهوه‌ای تیره ماند	هضم ناقص – دمای ناکافی یا زمان کم	دما را افزایش دهید، زمان هضم را طولانی‌تر کنید
کف کردن شدید در ابتدا	نمونه حاوی چربی یا قند بالا، دما خیلی سریع افزایش یافته	آنتی‌فوم اضافه کنید، دما را تدریجی افزایش دهید
فوران ناگهانی (Bumping)	نبود تکه شیشه جوش، دما بیش از حد بالا	همیشه boiling chips اضافه کنید، دما را برر سی کنید
نمونه خشک شد (Salting Out Effect)	نرخ جریان استخراج خیلی بالا، از دست رفتن اسید	نرخ مکش را کاهش دهید، حلالیت را بررسی کنید
نتایج غیر قابل تکرار	آلودگی شیشه‌ای، نمونه ناهمگن	شیشه را در اسید ۱:۱ HCl خیس کنید، نمونه را هموژن کنید
رسوب در لوله سانتریفیوژ	نمونه حاوی سیلیس است	نمونه را سانتریفیوژ کنید، از فاز مایع برای آنالیز استفاده کنید

## ۶. آماده‌سازی برای تقطیر

پس از اتمام هضم و رقیق‌سازی، نمونه‌ها آماده مرحله دوم – تقطیر – هستند:

### اقدامات قبل از تقطیر:

۱. اطمینان از شفاف بودن محلول هضم شده (عدم کدورت)
۲. اگر محلول کدورت دارد، به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ کنید
۳. نمونه را به دستگاه تقطیر (Kjeldahl Distillation Unit) منتقل کنید
۴. در دستگاه تقطیر، سود ۳۵-۳۰٪ به نمونه اضافه می‌شود تا آمونیوم به آمونیاک گازی تبدیل شود
۵. آمونیاک تقطیر شده در اسید بوریک ۴٪ جمع‌آوری می‌شود

### مرحله تیتراسیون (مرحله سوم)

- محلول جمع‌آوری شده با اسید هیدروکلریک ۰,۱ نرمال تیترو می‌شود
- با استفاده از اندیکاتور (مثل متیل رد و متیلن بلو) نقطه پایان تشخیص داده می‌شود
- تغییر رنگ از سبز به خاکستری/صورتی نشان‌دهنده نقطه پایان است

## ۷. نکات کلیدی برای موفقیت

قانون	توضیح
🔪 نمونه هموژن	نمونه جامد < ۱ میلی متر آسیاب شود، نمونه مایع قبل از هم بزیند
☐ شیشه کاملاً تمیز	لوله‌ها را بلافاصله پس از استفاده بشویید و در اسید ۱:۱ HCl خیس کنید
🔥 دما تدریجی	هرگز مستقیماً به دمای نهایی نروید - از کف کردن جلوگیری می‌کند
☐ حتماً boiling chips اضافه کنید	از bumping خطرناک جلوگیری می‌کند
🌀 سیستم استخراج دود باید فعال باشد	گازهای SO <sub>2</sub> و SO <sub>3</sub> بسیار سمی هستند
📄 نمونه شاهد (Blank) همیشه همراه باشد	برای تصحیح نتایج در برابر نیتروژن محیط
☐ PPE کامل استفاده کنید	عینک + محافظ صورت، دستکش مقاوم به اسید، روپوش، پیش‌بند

## ۸. چک لیست سریع برای کاربران

مرحله	اقدام	انجام شد؟
۱	عینک ایمنی، محافظ صورت، دستکش و روپوش پوشیده شده؟	<input type="checkbox"/>
۲	نمونه آسیاب/هموژن شده و توزین دقیق انجام شده؟	<input type="checkbox"/>
۳	لوله هضم تمیز (شسته شده در اسید ۱:۱ HCl) است؟	<input type="checkbox"/>
۴	۲ قرص کجدال، ۲۰ میلی لیتر H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> و boiling chips اضافه شده؟	<input type="checkbox"/>
۵	سیستم استخراج دود روشن و متصل است؟	<input type="checkbox"/>
۶	هضم با دمای پایین (۱۶۰-۱۵۰ C) شروع شده و تدریجی به ۴۲۰-۳۸۰ C رسیده؟	<input type="checkbox"/>
۷	حداقل ۲ ساعت در دمای نهایی نگه داشته شده؟	<input type="checkbox"/>
۸	محلول شفاف و بی‌رنگ است (هضم کامل)؟	<input type="checkbox"/>
۹	لوله‌ها حداقل ۱۰ دقیقه خنک شده و با آب دیونیزه رقیق شده‌اند؟	<input type="checkbox"/>
۱۰	نمونه رقیق شده به لوله سانتیفریوژ منتقل و برچسب خورده است؟	<input type="checkbox"/>
۱۱	نمونه شاهد (Blank) نیز به همین ترتیب آماده شده است؟	<input type="checkbox"/>
۱۲	لاگ‌بوک تکمیل شده است؟	<input type="checkbox"/>

## 🌟 جمع‌بندی نهایی

دستگاه هضم کجدال اولین و زمان‌برترین مرحله از روش استاندارد کجدال برای اندازه‌گیری نیتروژن و پروتئین است. با رعایت اصول زیر می‌توانید هضمی کامل و ایمن داشته باشید:

- 🔪 آماده‌سازی صحیح نمونه - نمونه جامد < ۱ میلی متر آسیاب شود، نمونه مایع هموژن باشد
- ☐ تمیزی مطلق شیشه - آلودگی شیشه‌ای مشکل بزرگ روش کجدال است - لوله‌ها را در اسید ۱:۱ HCl خیس کنید
- 🔥 افزایش تدریجی دما - با ۱۶۰-۱۵۰ C شروع کنید تا از کف کردن جلوگیری شود، سپس به ۴۲۰-۳۸۰ C برسانید

۴. استفاده از **boiling chips** - از bumping خطرناک و فوران اسید داغ جلوگیری می‌کند
۵. سیستم استخراج دود - گازهای  $SO_2$  و  $SO_3$  سمی هستند - هضم فقط در زیر هود فعال انجام شود
۶. ایمنی کامل - از عینک + محافظ صورت، دستکش مقاوم به اسید، روپوش و پیش‌بند استفاده کنید