

# APPLICATION NOTE

## Determinazione dell'azoto non proteico in latte e derivati – Metodo Dumas

Metodo basato sulla norma **DIN EN ISO 8968-4:2016** - Latte e derivati - Determinazione del contenuto di azoto proteico e del contenuto di azoto non proteico e calcolo del contenuto proteico effettivo



### Introduzione

Il latte e i latticini contengono proteine che vengono utilizzate dall'uomo per produrre le proteine autologhe. Le proteine del latte non sono importanti solo durante la produzione di latticini tradizionali ma, date le caratteristiche funzionali e l'elevato valore fisiologico-nutrizionale, rivestono anche un ruolo di primo piano in un'ampia gamma di alimenti (come ad esempio l'alimentazione per neonati) e nel settore farmaceutico. Il contenuto proteico del latte pertanto è decisivo per lo stabilimento del prezzo.

Le proteine del latte sono composte sostanzialmente da caseina, proteine del siero del latte e "azoto non proteico" (non-protein nitrogen, o "NPN"). L'NPN fa parte delle proteine grezze che non possono essere digerite dall'uomo, pertanto viene distinto dalle cosiddette "proteine vere" o "proteine pure". L'NPN è un componente decisivo della composizione del latte e comprende diversi composti contenenti azoto che, pur non essendo proteine, sono comunque importanti per la valutazione della sicurezza e della qualità del prodotto. L'NPN è composto da creatina/creatinina, peptidi, acidi ippurici, aminoacidi liberi, acido orotico, acido urico, ammoniaca e urea (quest'ultima rappresenta la maggior parte). Per poter determinare quindi la quantità di proteine rilevante, deve essere sottratta dal contenuto proteico la parte di NPN utilizzando la formula seguente:

**Proteina pura = proteina grezza - NPN.**

Nell'ambito del controllo qualità dei prodotti caseari e dell'analisi alimentare, la determinazione esatta dell'azoto non proteico (NPN) nel latte e nei derivati del latte riveste un ruolo di primo piano. La determinazione dell'NPN è rilevante dato che il contenuto proteico può essere aumentato artificialmente aggiungendo altre sostanze ad elevato contenuto di azoto.

Un esempio noto è lo scandalo melamina in Cina di qualche anno fa, quando è stata aggiunta melamina, un prodotto chimico dell'industria, nel latte in polvere per aumentarne il contenuto proteico. In questo caso, la mera determinazione del contenuto di azoto secondo Kjeldahl mostrerebbe qui tutti i suoi limiti rivelando un contenuto

#### Apparecchi C. Gerhardt:

- DUMATHERM N Pro

#### Ulteriore dotazione:

- Bilancia analitica
- Mixer
- Bagno d'acqua
- Stazione di filtraggio
- Sistema di aspirazione da laboratorio

# APPLICATION NOTE

proteico troppo elevato. La determinazione del NPN viene però utilizzata anche per trarre conclusioni sulla qualità dei mangimi degli animali: sulla base dei risultati delle analisi di NPN e urea è possibile adattare il contenuto o la sequenza delle razioni in maniera tale da ottimizzare i costi per il mangime, la produzione lattiera e la riduzione degli scarti di azoto nell'ambiente.

## Il metodo

### Preparazione del campione

I **campioni fluidi** vengono condotti in un becher e riscaldati in un bagno d'acqua a una temperatura di 38 – 40 °C. Una volta fatto ciò il campione da analizzare viene raffreddato a temperatura ambiente miscelandolo con cautela e viene pesato in un matraccio Erlenmeyer. Al campione di latte viene quindi aggiunto acido tricloroacetico e viene nuovamente pesata la miscela di latte e acido. Una volta formato il precipitato, il contenuto del matraccio Erlenmeyer viene filtrato. Il prodotto filtrato viene raccolto in un matraccio Erlenmeyer pulito e asciutto. I **campioni solidi** vengono eventualmente omogeneizzati con un mixer o un mulino a rotore e la quantità corrispondente di campione viene disciolta in acqua a 40 – 50 °C. Aggiungendo acido tricloroacetico si viene a formare il precipitato, che viene filtrato dopo aver riscaldato brevemente la sospensione. A questo punto il filtrato viene raccolto in un matraccio Erlenmeyer pulito e asciutto. Prima della pesatura viene tarata una pellicola di stagno (ad esempio DumaFoil), vengono pesati 75 mg di superassorbente e il campione viene pesato utilizzando una siringa monouso.

➔ **Nota applicativa:** Dato il contenuto di azoto ridotto è necessario pesare circa 400 mg di filtrato. Può essere utile quindi utilizzare DumaFoilXL per semplificare la manipolazione del campione.

### Pesata / calibrazione

Con una pesata di 400 mg di filtrato si ottengono, a seconda del campione, valori di punta tra 400 e 900 mVs, che corrispondono a una quantità di azoto di circa 0,08 – 0,18 mg. La calibrazione selezionata dovrebbe quindi coprire questo range di lavoro. Per contenuti di azoto così bassi viene solitamente utilizzata una soluzione THAM, in questo caso specifico una soluzione THAM con 0,05% di azoto N che, con pesate tra 150 mg e 400 mg, copre l'intero range di lavoro desiderato. Il coefficiente di correlazione minimo R2 è un valore di  $\geq 0,999$ .

### Calcolo del risultato

Il contenuto di azoto non proteico viene calcolato a seconda della pesata del campione, della miscela campione/acido, del filtrato e del peso dell'azoto nel filtrato.

➔ **Nota applicativa:** Per il calcolo utilizzate pure la nostra tabella Excel già pronta all'uso.

# APPLICATION NOTE

**Tabella 1:** Risultati dell'analisi per la determinazione dell'NPN con il metodo Dumas.

Tipo di campione	Quantità di campione filtrato [mg] +/- 10 %	Contenuto proteico misurato [%]	Deviazione standard	Deviazione standard relativa
Latte di mucca	400	0,155	0,005	3,519
Proteina del siero di latte isolata	400	2,906	0,102	3,509

**Tabella 2:** Esempi di risultati per il latte di mucca.

Quantità di campione [mg]	Fattore di conversione	Peso N [mg]	Azoto NPN [%]	Proteina NPN [%]
406,254	6,38	0,080	0,026	0,167
404,697	6,38	0,070	0,023	0,147
403,159	6,38	0,077	0,025	0,162
407,195	6,38	0,072	0,023	0,149
404,635	6,38	0,073	0,024	0,154
403,500	6,38	0,074	0,025	0,156
<b>Media</b>			0,024	0,155
<b>Deviazione standard</b>			0,001	0,005
<b>RSA [%]</b>			3,519	3,519

## Conclusioni

Per quanto riguarda latte e latte e latticini, il contenuto proteico riveste un ruolo essenziale nella valutazione della qualità e la determinazione del prezzo. Pertanto in fase di analisi è importante determinare anche il contenuto proteico "effettivo" del latte. L'analisi del NPN con DUMATHERM fornisce ai laboratori un valore importante per la determinazione del contenuto proteico effettivo.

Per ulteriori informazioni o altre applicazioni contattare:

**application@gerhardt.de**