

APPLICATION NOTE

Determinazione dell'azoto non proteico in latte e derivati – NPN nel latte e nei derivati del latte – Metodo Kjeldahl

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.

Apparecchi C. Gerhardt:

- KJELDATHERM KT20
- VAPODEST 500
- VACUSOG

Ulteriore dotazione:

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

APPLICATION NOTE

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 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. Il filtrato viene pesato in una siringa monouso mediante calcolo della differenza di peso.

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. Il filtrato può quindi essere raccolto con una siringa monouso.

Il filtrato deve essere trasparente e privo di particelle. In caso contrario è necessario ripetere precipitazione e filtrazione.

Digestione

Il campione viene digerito in acido solforico concentrato a 410 °C. Il filtrato non tende a formare schiuma, ma dovrebbe comunque essere riscaldato con cautela e sorvegliato. Secondo gli standard ufficiali il tempo di digestione è di 2,5 ore, mentre con il metodo ottimizzato è possibile ridurre i tempi di digestione a circa 2 ore.

➔ **Nota applicativa:** Riducete i tempi di digestione posizionando i campioni in un digestore a blocco preriscaldato.

Distillazione e titolazione

Dopo la digestione il campione viene distillato con l'aggiunta di H₂O e NaOH in una soluzione ricevente composta da H₃BO₃. Il punto finale viene determinato automaticamente in VAPODEST 500. Non è necessario l'impiego di un indicatore misto ma può essere aggiunto per il controllo visivo.

Calcolo del risultato

Il contenuto di azoto non proteico viene calcolato a seconda del valore in bianco precedentemente determinato dei pesi annotati, della pesata del campione, della miscela campione/acido, del filtrato e del consumo della soluzione di titolazione.

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

APPLICATION NOTE

Risultati delle analisi

Tabella 1: Risultati delle analisi per le determinazioni di NPN con il metodo Kjeldahl.

Tipo di campione	Quantità di campione filtrato in [mL] +/-10%	Contenuto proteico misurato [%]	Deviazione standard	Deviazione standard relativa
Latte di mucca	20	0,17	0,002	1,183
Proteina del siero di latte isolata	25	4,332	0,021	0,476
Proteina isolata (vegan)	20	2,524	0,010	0,386
Formaggio a pasta dura	10	4,733	0,023	0,486

Tabella 2: Esempi di risultati per la proteina isolata del siero di latte.

Quantità di campione [mL]	Fattore di conversione	V-VB [mL]	Azoto NPN [%]	Proteina NPN [%]
25	6,38	7,045	0,684	4,361
25	6,38	6,977	0,677	4,319
25	6,38	6,972	0,676	4,316
Media			0,679	4,332
Deviazione standard			0,003	0,021
RSA [%]			0,476	0,476

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 KJELDATHERM e VAPODEST fornisce ai laboratori un valore importante per la determinazione del contenuto proteico effettivo.

Per ulteriori informazioni o altre applicazioni contattare:

application@gerhardt.de