



White Paper di FOSS

Dumas o Kjeldah per l'analisi di riferimento?

Confronto e considerazioni sull'analisi dell'azoto/delle proteine di prodotti alimentari e mangimi

Di: Dr. Jürgen Müller

Il metodo Dumas

Il metodo di combustione Dumas è un metodo assoluto per la determinazione del contenuto totale di azoto in una matrice solitamente organica. Il campione viene sottoposto a combustione a temperature elevate in atmosfera di ossigeno. Tramite la successiva ossidazione e i tubi di riduzione, l'azoto viene convertito quantitativamente in N_2 . Gli altri prodotti volatili della combustione vengono catturati o separati. Un rilevatore a conducibilità termica misura l'azoto. I risultati vengono indicati come % o mg di azoto, che può essere convertito in proteine utilizzando fattori di conversione (Tabella 1).

Tabella 1 - Fattori di conversione dell'azoto in proteine (esempi da ISO 16634-1:2008)

Applicazioni	Fattore di conversione
Orzo	5,88
Farina di cocco	5,30
Avena	5,50
Riso	5,95
Segale	5,83
Girasole (semi, farina di girasole)	5,30
Seme di soia (semi, farina o prodotti)	5,71
Triticale	5,78
Grano (integrale, farina o bulgur)	5,83
Grano (crusca)	5,26

Conformemente a ISO/TS 16634-2:2009, il fattore di conversione generalmente riconosciuto per il prodotto analizzato è pari a 5,7 per il grano, la segale e i loro prodotti macinati e a 6,25 per tutti gli altri prodotti che rientrano nell'ambito d'applicazione di questo standard ISO.

Negli anni '90 è stata riconosciuta la validità del metodo Dumas rispetto al metodo Kjeldahl che da più di 100 anni veniva tradizionalmente usato come metodo primario per l'analisi della proteina grezza.

Il metodo Dumas ha il vantaggio di essere facile da utilizzare e automatizzato. È anche notevolmente più veloce del metodo Kjeldahl, impiegando solo pochi minuti per misurazione rispetto all'ora o più del Kjeldahl. Inoltre, non utilizza catalizzatori o sostanze chimiche nocive o tossiche. Il metodo Kjeldahl utilizza acido solforico concentrato e un catalizzatore per la digestione dei campioni. Quando, negli anni '90, nella maggior parte dei paesi è stato vietato l'uso del cadmio e del mercurio in laboratorio, molti laboratori hanno preso in considerazione come alternativa il metodo Dumas e sono stati condotti numerosi studi comparativi. Un risultato di questo riconoscimento è rappresentato da numerosi standard internazionali (Tabella 2). Anche i servizi di ispezione dei cereali di Stati Uniti, Canada e Australia hanno riconosciuto il metodo Dumas.

Poiché il metodo Dumas determina l'azoto totale includendo frazioni inorganiche come il nitrito e il nitrato e il metodo Kjeldahl determina solo l'azoto organico e l'ammoniacale, le differenze nei risultati sono state verificate negli studi comparativi. Il metodo Kjeldahl non recupera tutto l'azoto organico e presenta dei problemi soprattutto per quanto riguarda il recupero dei composti eterociclici dell'azoto, come per esempio l'acido nicotinico. Questo non è stato considerato un problema poiché, nella determinazione della proteina grezza, la questione principale era la conversione dell'azoto alfa-amminico dagli aminoacidi in ammoniacale. Storicamente, i fattori di conversione dell'azoto in proteina per il tradizionale metodo Kjeldahl sono stati determinati sulla base del modello di aminoacidi del campione. Per campioni di alimenti e mangimi aventi una composizione diversa, è stato accettato un fattore generale di 6,25. Usando gli stessi fattori di conversione per tecniche con diversi recuperi dell'azoto, possono verificarsi differenze nei risultati.

Tabella 2 - Standard per l'analisi dell'azoto e proteine totali in alimenti e mangimi usando il metodo Dumas.

Metodo di riferimento	Titolo (Matrice)
ISO 16634-1:2008	Prodotti alimentari - Determinazione del contenuto di azoto totale per combustione secondo il principio Dumas e calcolo del contenuto di proteine grezze - Parte 1: Semi oleosi e prodotti per la nutrizione animale
ISO/TS 16634-2:2009	Prodotti alimentari - Determinazione dell'azoto totale per combustione secondo il principio Dumas e calcolo del contenuto di proteine grezze - Parte 2: Cereali, legumi e cereali sfarinati
ISO 14891:2008 (IDF 185:2008)	Latte e prodotti del latte - Determinazione del contenuto di azoto - Metodo di routine che utilizza la combustione secondo il principio Dumas
Metodo AACC 46.30	Proteina Grezza - Metodo di combustione (mangimi animali, cereali e semi oleosi)
Standard ICC n. 167	Determinazione della proteina grezza nel grano e nei prodotti di cereali per alimenti e mangimi secondo il principio di combustione Dumas
AOAC 990.03	Proteina (Grezza) nei mangimi - Metodo di combustione
AOAC 992.23	Proteina grezza in semi di cereali e semi oleosi
AOAC 997.09	Azoto in birra, mosto e grano per i birrifici - proteine (totali) per calcolo - Metodo di combustione
AOCS Ba 4e-93	Metodo di combustione generale per la determinazione di proteine grezze (sottoprodotti di semi oleosi)
AOCS Ba 4f-00	Metodo di combustione per la determinazione di proteine grezze nella farina di soia
OIV-MA-AS323-02A	Quantificazione dell'azoto totale secondo il metodo Dumas in mosto e vino (Metodo Tipo II)

AOAC = AOAC International, Washington DC/USA, AOCS = American Oil Chemists' Society (Società Americana dei Chimici dell'Olio), Champaign IL/USA, AACC = American Association of Cereal Chemists (Associazione Americana dei Chimici dei Cereali), St. Paul MN/USA, ISO = International Organization for Standardization (Organizzazione Internazionale per la Normazione) Ginevra, Svizzera, IDF = International Dairy Federation (FIL Federazione Internazionale di Latteria), Bruxelles/Belgio, ICC = International Association for Cereal Science and Technology (Associazione Internazionale di Scienza e Tecnologia dei Cereali), Vienna/Austria, OIV = International Organisation of Vine and Wine (Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino), Parigi/Francia

I metodi Dumas e Kjeldahl porteranno a risultati diversi, in base al contenuto di azoto non proteico del campione analizzato e al grado di recupero dei rispettivi metodi. Ad esempio, in un campione di lattuga con un contenuto di nitrato di 33 000 mg/kg di sostanza secca, questo corrisponderà allo 0,75% di azoto o al 4,7% di proteina grezza (fattore 6,25)

Con 300 laboratori partecipanti e più di 100 metodi riportati, il PTS AAFCO (Associazione Americana per il Controllo dei Mangimi) rappresenta uno dei metodi di prova professionali più completi. La Tabella 3 mostra i risultati per alcuni campioni di mangime. Per il Kjeldahl sono stati selezionati i parametri per il metodo di riferimento AOAC 2001.11 Come si può osservare, gli scostamenti standard dei risultati riportati (tra parentesi) sono paragonabili, ma il metodo Dumas fornisce valori più alti.

Tabella 3: Confronto dei valori di proteina grezza ottenuti per campioni con prove valutative AAFCO.

Campione	Tipo	Kjeldahl	Dumas
AAFCO 200921	Mangimi per avicoli	17,29 (0,15)	17,64 (0,33)
AAFCO 200922	Mangimi per suini Starter	23,94 (0,33)	24,51 (0,39)
AAFCO 200923	Chow	12,3 (0,52)	12,51 (0,65)

Nel corso di cinque anni di raccolto (2000-2004), il Max Rubner Institute di Demold, Germania, ha effettuato uno studio completo con più di 800 campioni di grano comparando i risultati delle proteine grezze tra il metodo Kjeldahl e il metodo Dumas. Questo studio ha evidenziato che circa il 2% di "proteine Dumas" non venivano determinate dal metodo Kjeldahl ed è quindi stato presentato il seguente rapporto tra i valori di proteine Dumas e Kjeldahl:

$$\text{Kjeldahl} = 0,959 * \text{Dumas} + 0,258$$

Dal momento che differenza tra i metodi dipende non solo dall'anno di raccolto e dalle cultivar ma anche dalle condizioni di crescita (p.e. pioggia o fertilizzazione), questa formula non potrebbe generalmente essere usata per la conversione dei risultati.

Sono stati riportati numerosi altri studi comparativi. Simonne et al. (1) giungono alla conclusione che il metodo Dumas può sostituire il metodo Kjeldahl per la determinazione della proteina grezza in gruppi di alimenti selezionati dove vengono usati coefficienti appropriati. Hanno suggerito fattori di correzione di 1,01 per i latticini, 1,00 per i semi oleosi, 0,99 per i mangimi, 0,98 per gli alimenti per lattanti, 0,95 per i cereali, 0,94 per la carne, 0,98 per la verdura, 0,80 per il pesce e 0,73 per la frutta nel calcolo delle proteine grezze usando i risultati del metodo Dumas.

Altri ritengono che la sopravvalutazione sia difficile da gestire e per evitare conflitti commerciali la Commissione Europea ha confermato il metodo Kjeldahl come metodo della Comunità per i controlli ufficiali (Regolamento della Commissione (CE) n. 152/2009).

Con riferimento alla selettività, alle interferenze e alla suscettibilità all'adulterazione va ricordato che il metodo Dumas recupera quantitativamente tutte le forme di azoto, organico e inorganico, durante l'analisi, è specifico per l'azoto totale e non ha alcun grado di selettività per le proteine. Di conseguenza il metodo è suscettibile all'adulterazione con tutti i composti organici e inorganici che contengono azoto.

Proprio come il metodo Kjeldahl, non fornisce una misura della proteina vera, poiché registra l'azoto non proteico, e sono richiesti diversi fattori di correzione per proteine diverse in quanto hanno diverse sequenze di aminoacidi (2). Questi algoritmi di correzione, infatti, vengono raramente usati nei laboratori di routine. Nella maggior parte dei casi gli stessi fattori vengono usati per convertire i valori Dumas e Kjeldahl in proteina grezza.

Al fine di evitare conflitti e fraintendimenti in ambito commerciale è quindi importante stabilire il metodo da utilizzare per le determinazioni della proteina grezza. Nelle situazioni ufficiali, dove il Kjeldahl è ancora il metodo maggiormente riconosciuto, Dumas può essere usato se le differenze per il tipo di campioni analizzati sono trascurabili. È anche importante essere a conoscenza di queste differenze quando si stabiliscono e si convalidano le calibrazioni NIR.

Sommario

Per la stima del contenuto di proteina grezza in alimenti e mangimi è evidente un trend verso il metodo di combustione Dumas, che offre tempi di analisi più brevi, semplicità d'uso e una migliore sicurezza rispetto al metodo Kjeldahl. I due metodi hanno una precisione simile ma Kjeldahl è ancora il più riconosciuto e può essere molto efficace se utilizzato in batch. Entrambi i metodi sono molto sensibili alle adulterazioni.

Riferimenti:

(1) A H Simonne, E H Simonne, R R Eitenmiller, H A Mills e C P Cresman: *Could the Dumas Method Replace the Kjeldahl Digestion for Nitrogen and Crude Protein Determinations in Foods (Il metodo Dumas potrebbe sostituire la digestione Kjeldahl per la determinazione dell'azoto e delle proteine grezze negli alimenti)?* Journal of the Science of Food and Agriculture, Volume 73, Edizione 1, pagine 39–45, gennaio 1997

(2) Jeffrey C. Moore, Jonathan W. DeVries, Markus Lipp, James C. Griffiths o Darrell R. Abernethy: *Total Protein Methods and Their Potential Utility to Reduce the Risk of Food Protein Adulteration (I metodi delle proteine totali e la loro potenziale utilità per ridurre il rischio di adulterazione delle proteine alimentari)*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Volume 9, Edizione 4, pagine 330–357, luglio 2010

FOSS

FOSS
Corso Stati Uniti 1/77
I-35127 Padova
Italia

Tel.: +39 049 8287211
Fax: +39 049 8287222

fossitalia@foss.it
www.foss.it