



METODO KJELDAHL PER IL DOSAGGIO DELLE PROTEINE

A cura di Rossana Baglioni

Kjeldahl è il metodo principale per determinare il contenuto di azoto negli alimenti. La materia organica viene completamente mineralizzata mediante riscaldamento in presenza di un catalizzatore e trasformata in ammonio solfato. Viene aggiunto alla miscela idrossido di sodio al 40% con conseguente formazione di ammoniaca in forma gassosa, che viene raccolta in una soluzione di acido solforico e titolata con soluzione normex di NaOH. La quantità di azoto viene calcolata dalla quantità di ammoniaca liberata. Per ottenere poi la percentuale di proteine si moltiplica il valore in azoto per un coefficiente che tiene conto della composizione aminoacidica del campione. L'inconveniente della formazione di schiuma che potrebbe carbonizzare durante la mineralizzazione, viene eliminato aggiungendo pastiglie antifoam e H_2O_2 la quale serve anche ad abbreviare i tempi di mineralizzazione.

PRIMA FASE: DIGESTIONE

Un certo quantitativo dell'alimento, esattamente pesato

LATTE: 5 ml FARINA: 1g CARNE: 2g

viene sottoposto a digestione in modo che tutto l'azoto si trasformi in solfato di ammonio. La miscela digestiva può avere composizione diversa, quella usata nella metodica "Kjeltec-system" prevede di aggiungere le seguenti quantità:

al campione di latte:

2 Kjeltabs, 1 pastiglia antifoam (per evitare schiuma), 5ml di acqua ossigenata al 33%, 7 ml di miscela fosfosolforica;

per le farine:

2 Kjeltabs, 1 pastiglia antifoam (per evitare schiuma), 5 ml di acqua ossigenata al 33% e 7 ml di miscela fosfosolforica;

per le carni e derivati:

la miscela di reagenti è la stessa salvo che per la miscela fosfosolforica che viene sostituita da 10 ml di acido solforico conc.

E' importante mettere la miscela digestiva nel tubo prima dell'alimento, prelevare 5 ml di campione e porlo nel tubo apposito. Mettere il tubo nell'apparecchio di mineralizzazione a digerire a $420^{\circ}C$ (manopola sull'8) per 30' circa

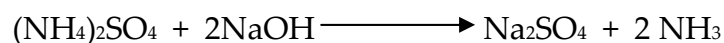
E' opportuno proteggere i tubi di gomma con l'apposito paracalore ed assicurarsi che sia aperta la manopola dell'acqua per il raffreddamento.

Al termine della digestione si raffredda e si aggiungono 50/70 ml di acqua distillata.

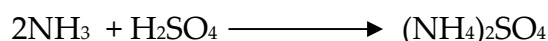
SECONDA FASE: SPOSTAMENTO E DISTILLAZIONE

Si trasferisce il tubo nell'unità di distillazione, collegandolo con una beuta di raccolta contenente 25 ml esatti di acido solforico 0,2 N. (0,1M)

Azionando rapidamente la leva denominata ALKALI si immettono nel provettone 50 ml circa di idrossido di sodio al 40%.



L'ammoniaca così liberata viene distillata in corrente di vapore (azionare la leva STEAM ed aprire il rubinetto dell'acqua che così entra nel sistema di produzione di vapore e refrigerazione). I vapori di ammoniaca si raccolgono nella beuta e reagiscono quantitativamente con l'acido solforico. La distillazione viene protratta fino a che si sono raccolti circa 200 ml.



Si interrompe allora l'operazione abbassando il tavolino della beuta prima di chiudere lo STEAM.

TERZA FASE: TITOLAZIONE

Si titola l'eccesso di acido solforico con idrossido di sodio 0,2 N in presenza di metilarancio fino a comparsa di debole colorazione rosata. Sottraendo ai ml di acido inizialmente presenti quelli residui, ricavati dalla titolazione, si risale al quantitativo di acido combinatosi con l'ammoniaca. Questo è infatti il valore da usare nella formula.

$$g = V \times N \times pe / 1000$$

V= ml di NaOH utilizzati nella titolazione

N= normalità dell'NaOH

pe N contenuto in $\text{NH}_3 = 14$

Si ottengono così i grammi di azoto presenti nel campione esaminato che moltiplicati per il coefficiente di trasformazione 6,25 per il latte, 5,7 per le farine e 6,0 per le carni, consente la trasformazione in proteine.

Farine	valori normali	proteine	10,5-11,5%	
Latte	“	“	“	16%
Carni	“	“	“	15-23%

ATTENZIONE: per prima cosa controllare sempre le etichette di sicurezza presenti nei flaconi o nelle bottiglie.

La miscela fosfosolforica e l'acido solforico provocano gravi ustioni, si consiglia di indossare guanti per evitare il contatto con la pelle e non respirarne i vapori. Lavorare sotto cappa. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente la parte interessata con acqua e sapone.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI:

Versate il contenuto dei tubi nel contenitore di raccolta liquidi.