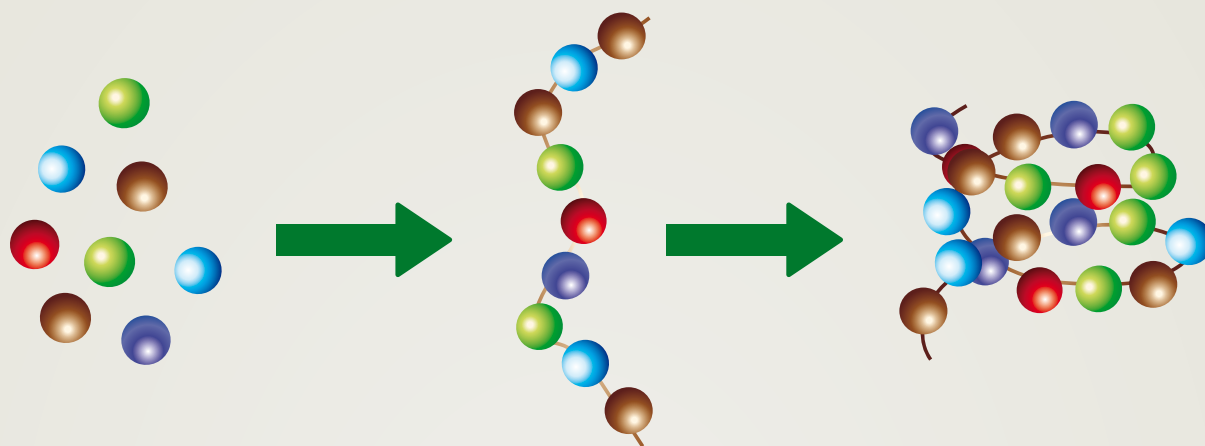


IDROLIZZATI PROTEICI



Idrolizzati proteici

Le proteine sono macromolecole costituite dall'unione di molecole più piccole, chiamate amminoacidi, che si dispongono in sequenza a formare lunghe catene ripiegate su sé stesse, che prendono il nome di catene polipeptidiche.



AMINO ACIDS

PEPTIDE

PROTEIN

Gli **idrolizzati proteici** sono prodotti derivanti dall'idrolisi delle proteine che, applicati alle colture, ne migliorano le prestazioni produttive e qualitative. Sono composti da frazioni proteiche di diversa lunghezza (amminoacidi liberi, oligopeptidi, polipeptidi) che, in maniera più o meno diretta, influenzano diversi processi fisiologici delle piante migliorandone lo sviluppo radicale e vegetativo, la tolleranza a stress abiotici, la fioritura, l'allegagione, lo sviluppo dei frutti e anche la qualità finale.

Gli amminoacidi liberi e gli oligopeptidi, questi ultimi in gergo chiamati semplicemente "peptidi", dato il limitato numero di amminoacidi di cui sono composti, sono identificabili come "**oligomeri**", mentre i polipeptidi e le proteine come "**polimeri**".

L'effetto sulle piante può essere multiplo, a seconda della lunghezza delle frazioni proteiche (amminoacidi liberi, oligopeptidi, polipeptidi) e quindi del loro peso molecolare.

- I Polipeptidi, che sono frazioni formate da circa 50-100 amminoacidi, con peso molecolare compreso tra 5.000 e 10.000 Da (Dalton), sono utilizzati dalle piante per una funzione per lo più **nutrizionale** e, normalmente, vengono applicati per via **radicale**;
- Gli Oligopeptidi, che sono frazioni formate da pochi amminoacidi (< 50), con peso molecolare inferiore a 5.000 Da (Dalton), e gli Amminoacidi liberi, presenti in forma singola, sono utilizzati dalle piante sia per una funzione **nutrizionale** che **biostimolante** e vengono applicati per via **fogliare e radicale**.



Ruolo degli amminoacidi nella fisiologia vegetale

Gli amminoacidi (AA) presenti nelle proteine di **tutti gli organismi viventi** (AA proteici) sono 20 e tra questi, alcuni intervengono in maniera positiva in più processi metabolici importanti, come riportato in maniera sintetica nella tabella sottostante:

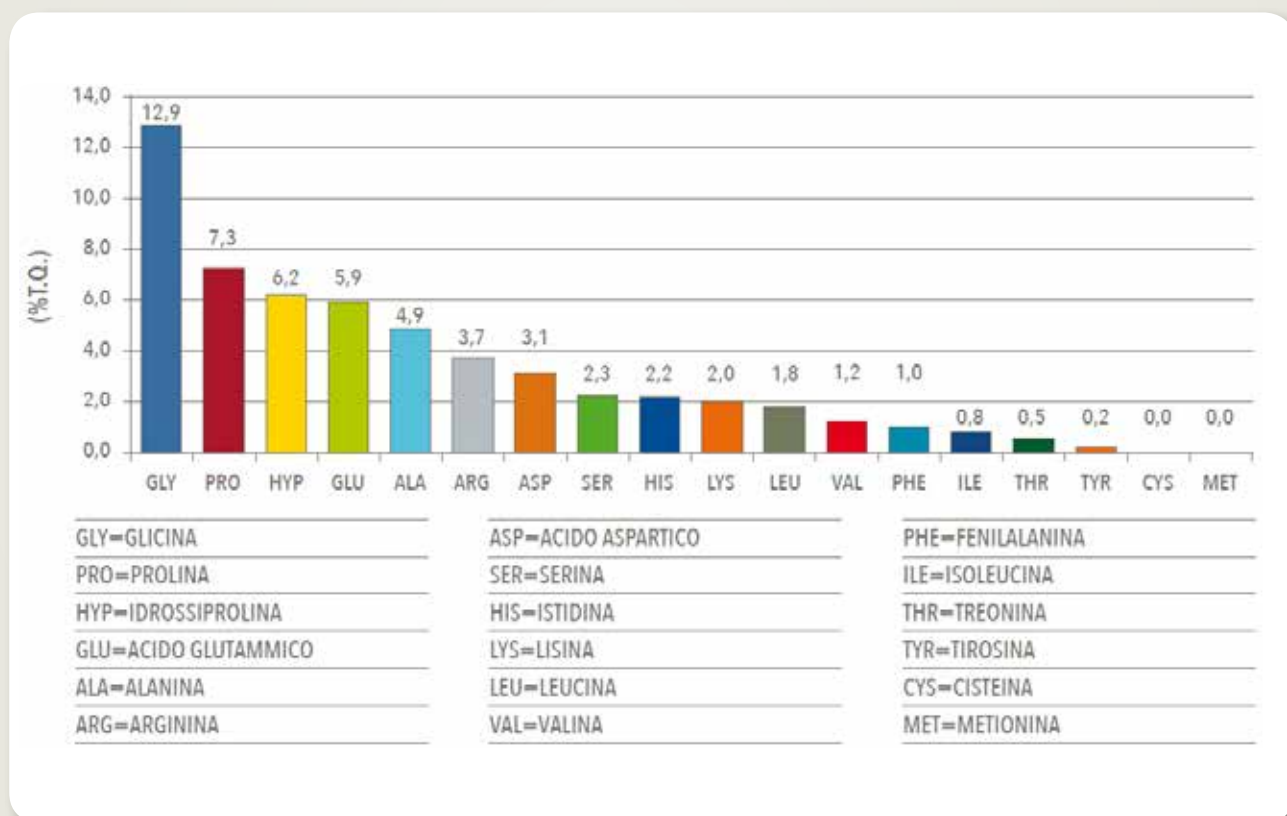
PROCESSO FISIOLÓGICO	AMMINOACIDI COINVOLTI
Stimolo della fotosintesi	Alanina, Acido Glutammico, Glicina, Lisina, Prolina
Apertura degli stomi	Alanina, Acido Glutammico, Metionina, Lisina, Prolina
Azione antiossidante	Cisteina, Istidina, Lisina, Metionina, Triptofano
Azione complessante	Acido Aspartico, Acido Glutammico, Glicina
Germinazione del polline	Acido Glutammico, Prolina
Precursori degli aromi	Alanina, Isoleucina, Leucina Valina
Precursori degli ormoni	Metionina, Triptofano
Precursori del colore	Fenilalanina
Precursori del sapore	Alanina, Arginina, Glicina, Prolina
Regolazioni dell'osmosi	Prolina
Resistenza agli stress	Acido Glutammico, Cisteina, Lisina, Prolina, Serina, Valina
Riserva d'azoto	Acido Aspartico, Acido Glutammico, Arginina, Prolina, Asparagina
Sviluppo radicale	Arginina, Metionina
Sintesi DNA	Glutammina, Acido Asparico
Sintesi delle proteine	Glutammina



*L'amminogramma, un
dato importante da
conoscere*

L'aminogramma di un idrolizzato proteico, cioè la tipologia e la quantità di ciascun aminoacido presente, è un **primo dato importante da conoscere**. Infatti, quante più tipologie di aminoacidi diversi sono presenti, tanto più completa sarà l'azione dell'idrolizzato proteico su differenti processi metabolici della pianta.

La presenza maggiore di alcuni aminoacidi, inoltre, indica un'azione migliore sui principali processi fisiologici: ad esempio, prolina, glicina, acido glutammico, alanina, arginina e acido aspartico sono tra gli aminoacidi sempre presenti in tutti i processi del metabolismo primario delle piante, in quanto influenzano positivamente la fotosintesi, la sintesi proteica, la sintesi del DNA, ecc..



*Materia prima e
processo produttivo
determinano maggiore
efficacia sulla pianta
e migliore qualità
dell'idrolizzato*

Materie prime

Ciò che distingue un idrolizzato proteico da un altro e ne determina una maggiore efficacia sulle piante e la migliore qualità è il binomio “**materia prima - processo produttivo**”.

La combinazione di questi due fattori determina la tipologia di amminoacidi presenti, la lunghezza delle frazioni proteiche, la configurazione degli amminoacidi liberi e le altre caratteristiche chimico-fisiche dei prodotti.

Le materie prime proteiche di origine naturale, sia animale che vegetale, contengono fino a 20 amminoacidi diversi (AA proteici), presenti in proporzioni variabili a seconda dell'origine.

A seconda della materia prima, possono essere prevalenti alcuni amminoacidi ed altri essere meno presenti. **Questo è un fattore caratterizzante che consente di capire quale sia la materia prima di origine di un determinato idrolizzato proteico.** Ad esempio, gli idrolizzati proteici ottenuti a partire da collagene, contengono una maggiore concentrazione di glicina, prolina e idrossiprolina, mentre quelli di origine vegetale, ottenuti a partire da leguminose, contengono alte concentrazioni di triptofano e lisina.

Nella tabella sottostante, sono riportati i principali amminoacidi presenti nelle diverse materie prime usate per la produzione di idrolizzati proteici:

MATRICE PROTEICA	MATERIA PRIMA	AMMINOACIDI CARATTERISITICI
ORIGINE ANIMALE		
	Collagene	Glicina, Prolina, Idrossiprolina
	Cheratina	Cisteina, Serina
ORIGINE VEGETALE		
	Cereali	Metionina, Cisteina
	Legumi	Triptofano, Lisina
ALTRO		
	Lieviti	Acido Glutammico, Acido Asparico
	Microalghe	Acido Glutammico, Leucina, Alanina



Processo produttivo

Gli idrolizzati proteici sono ottenuti mediante un processo di idrolisi dove il taglio delle lunghe catene polipeptidiche delle proteine avviene per effetto dell'acqua e da altre sostanze e/o agenti e/o dal calore che attivano la reazione. Tale processo può essere realizzato in diversi modi:

- Idrolisi termica;
- Idrolisi chimica;
- Idrolisi enzimatica;
- Idrolisi mista.



Nell'idrolisi termica viene utilizzato il calore per tagliare le catene proteiche, per cui il taglio dei legami peptidici tra le proteine è blando ed avviene in maniera casuale. Il risultato è la formazione di un idrolizzato proteico al cui interno le catene di amminoacidi sono ancora abbastanza lunghe (polipeptidi, con un numero di amminoacidi superiore a 50 unità), per cui la funzione dell'idrolizzato è principalmente **nutrizionale**. In genere, questo tipo di idrolisi, viene utilizzata per la produzione di idrolizzati proteici solidi per applicazione al suolo, in cui la sostanza organica e i polipeptidi vengono mineralizzati dalla microflora del terreno, per rendere disponibile alle piante, in maniera graduale, l'azoto e gli altri elementi.





L'**idrolisi chimica** è un processo in cui, allo scopo di rompere le catene proteiche, vengono utilizzati acidi o basi forti (acido solforico, idrossido di sodio), ottenendo così un ambiente molto acido o molto basico e che avviene ad alta temperatura per accelerare i tempi della reazione. Il risultato è la formazione di un idrolizzato proteico con una maggiore presenza di oligopeptidi (frazioni proteiche molto piccole) e amminoacidi liberi (forma singola) rispetto agli altri tipi di idrolisi, ma che risulta poco stabile. Alla fine del processo vengono aggiunti acidi o basi per riportare il prodotto ottenuto ad un pH neutro e poterlo quindi applicare sulle piante, **ma ciò determina un'elevata salinità del prodotto finale**. Inoltre, vengono aggiunte sostanze conservanti per stabilizzare il formulato e **augmentarne la conservazione**, che vanno ad incidere sulle caratteristiche chimico-fisiche e ne limitano la miscibilità.



Nonostante un alto grado di idrolisi e la conseguente formazione di molti amminoacidi liberi, l'idrolisi chimica provoca una consistente percentuale di "racemizzazione" degli amminoacidi liberi che si formano, cioè circa il 50% degli amminoacidi liberi presenti nell'idrolizzato proteico risulta avere una forma cosiddetta "destrogiro", a causa del cambiamento della struttura chirale. Le piante, come tutti gli esseri viventi, non sono in grado di utilizzare direttamente gli amminoacidi liberi destrogiri nel loro metabolismo che quindi non sono realmente utilizzati per la loro funzione biostimolante e, anzi, un loro accumulo nelle cellule vegetali può risultare tossico.

Inoltre, il processo di idrolisi chimica, a causa delle condizioni estreme di temperatura e pH:

- 1. non è selettivo nei confronti dei legami peptidici** (non è possibile stabilire prima gli amminoacidi liberi e le altre frazioni proteiche che si formeranno);
- 2. provoca la distruzione di molti amminoacidi**, quali per esempio, il triptofano, che viene totalmente distrutto, la cisteina, la serina e la treonina che vengono distrutti parzialmente;
- 3. può indurre la formazione di sostanze potenzialmente tossiche**, come ad esempio la lisinoalanina;





Nell'idrolisi enzimatica vengono utilizzati enzimi stereospecifici che tagliano le catene proteiche lavorando a pH neutro e a bassa temperatura (< 60 °C). Il risultato è un idrolizzato proteico altamente stabile e riproducibile (composizione costante nel tempo), in quanto ciascun enzima selezionato taglia solo uno specifico tipo di legame tra gli amminoacidi e, lavorando in condizioni più neutre, non si verificano problemi di distruzione di amminoacidi. Infine, almeno il 95% degli amminoacidi liberi che si formano con l'idrolisi enzimatica permangono nella forma **levogira**, cioè quella presente in natura, con una percentuale di "racemizzazione" (trasformazione da levogiri a destrogiri) quasi nulla.

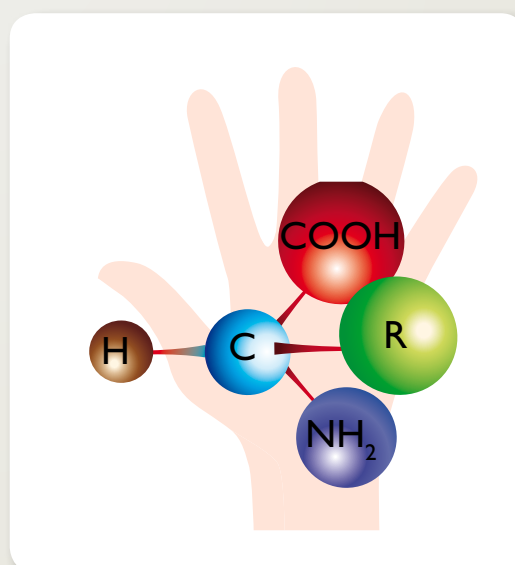
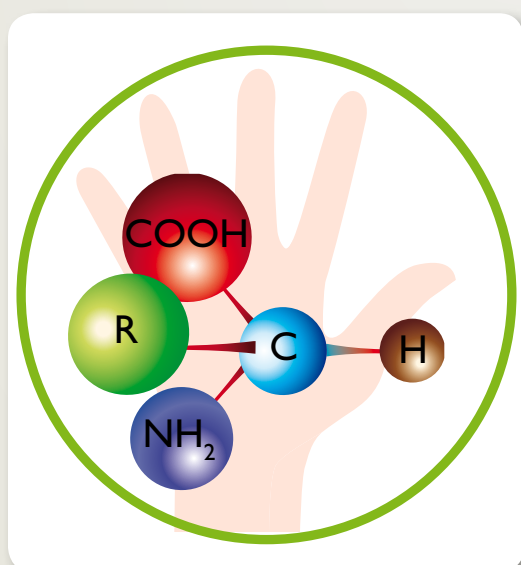


L'idrolisi mista prevede l'utilizzo congiunto delle tecniche di idrolisi chimica ed enzimatica.



*Quali sono i parametri
che rivelano la qualità di
un idrolizzato proteico?*

- **Il contenuto in amminoacidi totali e il profilo amminoacidico**, cioè la tipologia di amminoacidi più presenti. La presenza di tutti gli amminoacidi è importante per le piante e tra questi: Glicina, Prolina, Idrossiprolina, Acido Glutammico, Acido Aspartico, Serina, Arginina e Alanina sono quelli più rilevanti per tutte le funzioni primarie delle piante.
- **Il contenuto in azoto e carbonio organici** dell'idrolizzato proteico, che sarà tanto più alto, quanto maggiore è la presenza di amminoacidi.
- **La presenza di frazioni proteiche molto piccole, cioè di amminoacidi liberi e oligopeptidi che hanno un effetto immediato e biostimolante sulle piante**, in quanto vengono rapidamente assorbiti a livello fogliare e radicale, grazie al ridotto peso molecolare. Essi sono subito impiegati nei processi di sintesi delle proteine accelerando la risposta metabolica delle piante. Gli oligopeptidi si riconoscono in base al loro peso molecolare, inferiore a 5.000 Da, e un peso molecolare inferiore a 600 Da (Dalton) indica la presenza di amminoacidi liberi e di oligopeptidi formati al massimo da 4-5 amminoacidi con spiccata azione biostimolante.
- **La presenza di un'alta percentuale di amminoacidi liberi in forma "levogira"**.
 - Gli amminoacidi liberi si distinguono qualitativamente in base alla forma "levogira" e "destrogira", valutata da una specifica analisi di laboratorio attraverso la luce polarizzata che ne evidenzia l'orientamento dei gruppi COOH e NH₂. La pianta utilizza principalmente gli amminoacidi liberi in **forma levogira**, in quanto sono la forma più presente in natura e adatta a tutti i processi fisiologici.



In funzione del processo di idrolisi utilizzato, come detto in precedenza, si può avere un certo grado di “racemizzazione”, cioè il cambiamento della struttura da “levogira” a “destrogira”. Più è alto il grado di racemizzazione, più amminoacidi liberi destrogiri si formano, minore è la qualità dell'idrolizzato proteico poiché la pianta utilizza principalmente gli amminoacidi liberi in **forma levogira**, in quanto sono la forma più presente in natura e adatta a tutti i processi fisiologici. Di contro, gli amminoacidi liberi destrogiri spesso non vengono riconosciuti immediatamente dalle piante per cui non vengono utilizzati per la loro funzione biostimolante. L'idrolisi enzimatica garantisce come minimo il 95% di amminoacidi in forma levogira presenti nell'idrolizzato, al contrario dell'idrolisi chimica, in cui questa percentuale può essere massimo del 50%.

	IDROLISI ENZIMATICA	IDROLISI CHIMICA
Grado di racemizzazione degli amminoacidi liberi	Basso	Alto
Amminoacidi liberi in forma levogira	> 95%	< 50%

- Il carattere di “**polimero naturale**” di un idrolizzato proteico che viene misurato in base alla proporzione tra i contenuti delle diverse frazioni proteiche e in base all'origine della materia prima da cui si ottiene.
 - Per “*polimeri naturali*” si intendono i polimeri che sono il risultato di un processo di polimerizzazione che ha avuto luogo in natura, indipendentemente dal processo di estrazione con cui sono stati estratti (ECHA, Orientamento sui monomeri e i polimeri, Versione 2.0).
 - Ne risulta che sono naturali solo i polimeri che derivano da materie prime di origine naturale a prescindere dal processo tecnologico con cui vengono estratti. I polimeri naturali si caratterizzano per **avere non più della metà degli amminoacidi totali in forma libera** e inoltre è necessaria sempre una certa variabilità di composizione tra le diverse frazioni polimeriche, in quanto un prodotto naturale non può contenere più del 50% dello stesso amminoacido libero o oligopeptide.
 - Se un polimero soddisfa gli stretti vincoli dell'art 3(5) del REACH regolamento EC 1907/2006 può essere da esso esentato. **Invece, i prodotti ai quali sono aggiunti amminoacidi di sintesi, non rispettano questi parametri e quindi devono essere soggetti alla registrazione REACH.**

In sintesi, i parametri principali che caratterizzano la qualità di un idrolizzato proteico sono:

- ▶ Alto numero di amminoacidi totali e loro tipologia;
- ▶ Alto contenuto in azoto organico e carbonio organico;
- ▶ Alto contenuto di amminoacidi liberi in forma levogira + oligopeptidi, che esercitano anche un effetto biostimolante sulle piante;
- ▶ Caratteristiche chimico-fisiche di bassa salinità e pH sub-acido, che consentono anche la miscibilità di questi prodotti con altri formulati commerciali;
- ▶ Esenzione dal REACH regolamento EC 1907/2006, che determina il carattere di “polimero naturale” dell'idrolizzato proteico.

Per valutare la qualità di un idrolizzato proteico sarebbe utile quindi disporre di certificati di analisi relativi a:

- ▶ Amminogramma;
- ▶ Contenuto in amminoacidi totali e liberi;
- ▶ Contenuto in azoto organico e in carbonio organico;
- ▶ Salinità, ph e densità;
- ▶ Distribuzione dei pesi molecolari;
- ▶ Percentuale di racemizzazione;
- ▶ Dichiarazione di esenzione REACH.



GELAMIN[®]



gelatina fluida per uso agricolo



FCEH

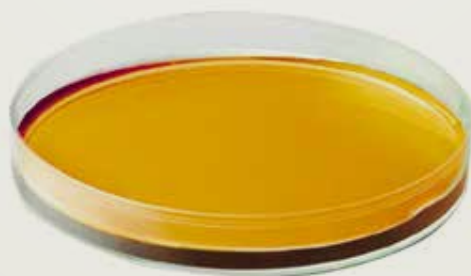
FULLY
CONTROLLED
ENZYMATIC
HYDROLYSIS



GELAMIN®

gelatina fluida per uso agricolo

GELAMIN® è la matrice proteica di **ILSA** (gelatina idrolizzata fluida per uso agricolo) ottenuta attraverso un processo di idrolisi enzimatica (**FCEH®**: Fully controlled enzymatic hydrolysis) di collagene. La materia prima utilizzata, nello specifico, è il wet blue, fase intermedia del processo di lavorazione della pelle che, in base al Reg. CE 142/2011, **risulta assolutamente esente da rischi sanitari** e contiene un'altissima percentuale di collagene.

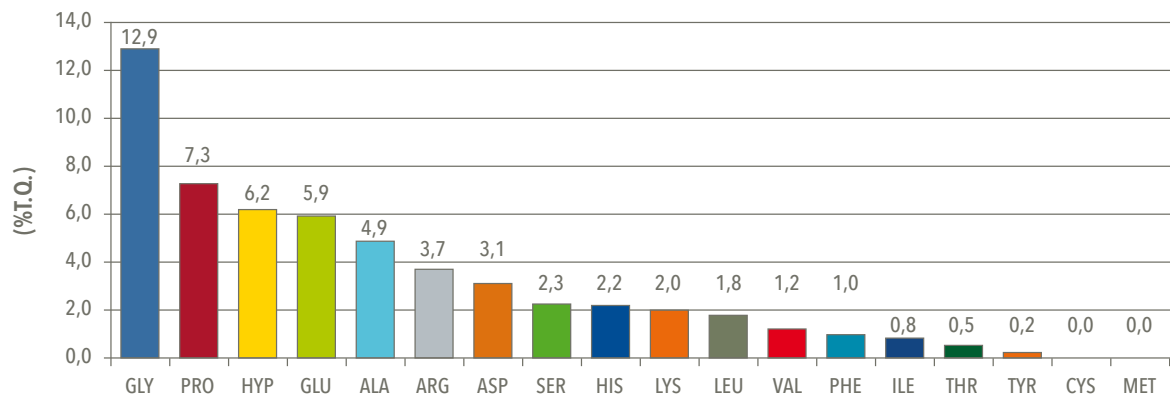


Il binomio materia prima - processo produttivo rendono **GELAMIN®** l'idrolizzato proteico con le caratteristiche qualitative migliori presenti in commercio:

- Azoto organico = 9% (p/p)
- Carbonio Organico = 24,5% (p/p)
- Amminoacidi Totali > 50% (p/p)
- Amminoacidi liberi Levogiri + Oligo-peptidi > 22% (p/p)
- pH = 5-6
- Conducibilità elettrica (1:100) = 0,70-0,95 dS/m
- Densità = 1,22 kg/dm³
- Consentito in agricoltura biologica



COMPOSIZIONE AMMINOACIDICA DI GELAMIN®



GLY=GLICINA

PRO=PROLINA

HYP=IDROSSIPROLINA

GLU=ACIDO GLUTAMMICO

ALA=ALANINA

ARG=ARGININA

ASP=ACIDO ASPARTICO

SER=SERINA

HIS=ISTIDINA

LYS=LISINA

LEU=LEUCINA

VAL=VALINA

PHE=FENILALANINA

ILE=ISOLEUCINA

THR=TREONINA

TYR=TIROSINA

CYS=CISTEINA

MET=METIONINA

L'analisi degli amminoacidi in esso contenuti rivela l'alta presenza di glicina, prolina e idrossiprolina tipiche della matrice proteica animale di cui è costituita la materia prima cioè il collagene. E' possibile osservare la variabilità degli amminoacidi presenti, che evidenziano il carattere naturale dell'idrolizzato proteico.

L'analisi dei pesi molecolari evidenzia inoltre che le frazioni proteiche di **GELAMIN®** sono molto piccole e che circa **il 22% del prodotto, sul peso secco, cioè tolta l'acqua, è composto da amminoacidi liberi ed oligopeptidi con peso molecolare inferiore a 600 Da, quindi con chiaro effetto biostimolante** (Fig.1). La restante parte delle frazioni proteiche ha un peso molecolare inferiore a 2.620 Da, indice comunque di un rapido assorbimento da parte delle piante e di un'azione complessante e veicolante nei confronti di altri elementi nutritivi e prodotti miscelati.

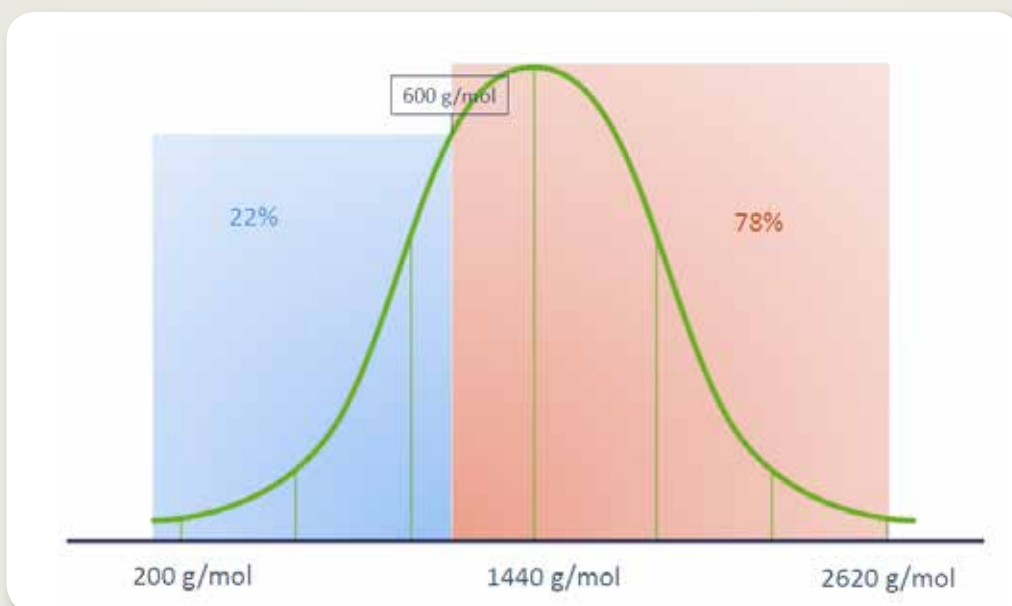


Fig.1 – Distribuzione pesi molecolari di **GELAMIN®**

Infine, moderne tecniche analitiche hanno definito che la quantità di molecole polimeriche dei prodotti **ILSA** e la distribuzione dei loro pesi molecolari rispettano gli stretti vincoli dell'art.3(5) del REACH e pertanto i prodotti **ILSA** possono essere definiti polimeri e l'esenzione dalla registrazione REACH, certifica che il prodotto è **sicuramente** un **“polimero naturale”** e ciò garantisce che, nella matrice **GELAMIN®**, è presente una composizione bilanciata di componenti a diverso peso molecolare, che vanno dagli amminoacidi liberi levogiri agli oligopeptidi, in grado di agire molto efficacemente sulla pianta. Questo poiché **ILSA** utilizza per la produzione dei propri prodotti solo materie prime naturali e processi tecnologici di idrolisi, che agiscono solo accorciando la catena polimerica senza modificarne la sequenza in monomeri e permettono di trasformare un prodotto scarsamente utilizzabile dalle piante in un prodotto altamente biodisponibile.



*Gli altri
idrolizzati proteici*

Idrolizzati proteici da idrolisi chimica

Sono anch'essi prodotti "naturali", in quanto ottenuti da materie prime naturali ma il processo produttivo più "aggressivo", come spiegato nel capitolo relativo all'idrolisi chimica, comporta alcuni svantaggi:

- ▶ Degradazione di alcuni amminoacidi, già poco presenti nella materia prima, che possono risultare assenti nell'idrolizzato perché degradati durante il processo di idrolisi (es. triptofano, cisteina). Ciò causa anche una riduzione nel contenuto di amminoacidi totali;
- ▶ Riduzione del contenuto di azoto organico e presenza di azoto ammoniacale prodotto durante il processo legato alla degradazione degli amminoacidi;
- ▶ Alto contenuto di amminoacidi liberi in forma destrorsa: almeno la metà degli amminoacidi liberi ottenuti per idrolisi chimica sono in forma destrorsa, per cui non hanno un'azione biostimolante sulle piante, che non sono in grado di utilizzarli nel loro metabolismo;
- ▶ Caratteristiche chimico-fisiche di alta salinità e pH eccessivamente acido o basico, che provocano controindicazioni di miscibilità con altri formulati;
- ▶ Aminogramma meno equilibrato ma più sbilanciato su pochi amminoacidi, soprattutto se la materia prima utilizzata non è il collagene.

Idrolizzati proteici di sintesi

Oltre agli idrolizzati proteici ottenuti dall'idrolisi di proteine vegetali e/o animali, esistono in commercio prodotti ottenuti dalla miscelazione di amminoacidi di origine sintetica. Nonostante in etichetta possano riportare la scritta "idrolizzato proteico", questi prodotti non sono dei veri idrolizzati, in quanto non è stato effettuato un processo di idrolisi per produrli. Gli amminoacidi vengono sintetizzati direttamente in laboratorio, con specifiche reazioni organiche o processi di ingegneria genetica. Successivamente, vengono sciolti in acqua, anche insieme a residui zuccherini, e poi venduti a bassissimo costo, tal quali o liofilizzati.

- ▶ Gli idrolizzati proteici di sintesi hanno apparentemente caratteristiche simili agli idrolizzati proteici naturali, **ma il loro impiego in agricoltura biologica, se scoperto, causerebbe la perdita delle certificazioni per le colture e per le aziende agricole produttrici in cui sono stati impiegati.**



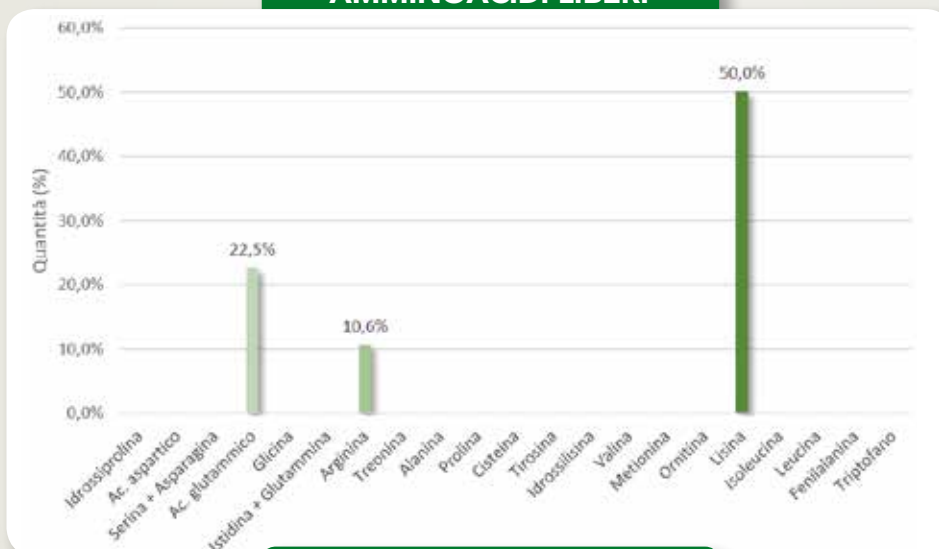
*Come ci si può difendere
da queste truffe?*

Eseguendo l'analisi del contenuto di aminoacidi totali e aminoacidi liberi che permette di verificare se tali prodotti:

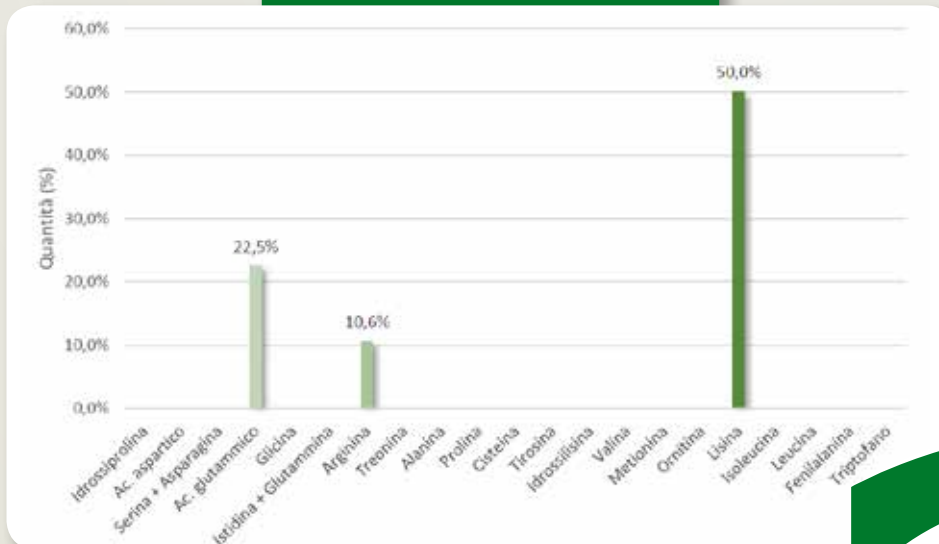
- ▶ contengono miscugli di pochi aminoacidi: al massimo solo 3 o 4 tipologie di aminoacidi, cosa che in natura non è possibile;
- ▶ contengono aminoacidi presenti solo in forma libera, cioè la percentuale di aminoacidi totali coincide con quella degli aminoacidi liberi, cosa impossibile con qualsiasi processo di idrolisi;
- ▶ contengono un singolo aminoacido in misura superiore al 50% del totale degli aminoacidi presenti nel prodotto, il che conferma che il formulato non è un **“polimero naturale”** (in base al REACh).
- ▶ In genere, l'amminoacido di sintesi più aggiunto è la lisina poiché caratterizzato da alta solubilità;
- ▶ contengono molti aminoacidi liberi ma, in proporzione, poco azoto organico (di origine naturale).

Esempio di profilo degli aminoacidi totali e liberi di un idrolizzato proteico di sintesi:

AMMINOACIDI LIBERI



AMMINOACIDI TOTALI



Nell'esempio riportato, si vede come il numero e la tipologia di aminoacidi totali coincida con quelli liberi e che un solo aminoacido (lisina) sia presente per il 50%. Inoltre, sono presenti solo tre aminoacidi, cosa impossibile in una proteina naturale.



*Vi sono altre facili
verifiche analitiche che
consentono di
“rilevare la probabile
truffa”?:?*

Si possono verificare:

- ▶ l'alto contenuto di cloruri, dovuto al fatto che alcuni aminoacidi vengono prodotti sotto-forma di sale cloruro (come, ad esempio, la lisina e la cisteina). In alcuni casi, la percentuale di cloruri può risultare maggiore del 10%, il che comporta un'alta conducibilità elettrica del formulato, che può avere effetti di fito-tossicità sulla pianta e ne determina limiti nella miscibilità con altri prodotti;
- ▶ l'elevata presenza di aminoacidi in forma destrorotatoria;
- ▶ eventuali controindicazioni di miscela con altri prodotti.

Occhio all'etichetta!

Alcuni produttori di idrolizzati proteici presenti sul mercato utilizzano altri **"trucchi"** per dichiarare valori più alti di aminoacidi totali e liberi o per mascherare la tipologia del processo produttivo utilizzato.

Tra questi, i più utilizzati sono:

- ▶ Esprimere i valori in peso/volume, per cui il valore risulta più alto di quello espresso in peso/peso;
- ▶ Esprimere i valori sul secco (non sul tal quale, cosa che andrebbe fatta per i prodotti liquidi), per cui togliendo l'acqua, il valore risulta notevolmente più alto;
- ▶ Commercializzare prodotti con valori di densità molto alta, per cui diluiscono meno il prodotto, con conseguenti rischi di ridotta stabilità e durata di conservazione;
- ▶ Dichiarare come processo l'idrolisi enzimatica, ma il costo del prodotto è bassissimo (l'idrolisi enzimatica comporta l'acquisto di enzimi specifici, avviene a temperature basse e quindi ha un processo di durata molto più lunga e di resa inferiore caratterizzandosi per costi produttivi più elevati);
- ▶ Dichiarare valori di aminoacidi liberi molto elevati, non giustificabili né in relazione alla materia prima dichiarata, né al processo produttivo a fronte di un prezzo eccessivamente basso del prodotto.

Infine, ciò che permette di distinguere un idrolizzato proteico di qualità da un altro è la facilità d'impiego e il risultato agronomico in termini di qualità e quantità delle produzioni ottenute in campo!



Metodi di analisi

GRADO DI IDROLISI

Indica l'entità dei tagli delle catene polipeptidiche. Viene determinato con la metodica prevista dalla legge, cioè con il rapporto tra l'azoto amminico (N-NH₂) e l'azoto organico totale (N org). L'azoto amminico (N-NH₂) viene dosato per spettrofotometria, facendo reagire un'aliquota dell'idrolizzato proteico diluito in acqua con una soluzione di o-ftaldialdeide (OPA) in presenza di N-acetil-cisteina (NAC) e sodio dodecilsolfato (Garcia Alvarez-Coque et al., 1989; Nielsen et al., 2001).

L'azoto organico totale (N org) viene calcolato per differenza, sottraendo all'azoto totale la frazione minerale (N nitrico e N ammoniacale).

DIMENSIONI MOLECOLARI MEDIE (MW)

Le dimensioni molecolari medie vengono determinate per cromatografia liquida a esclusione dimensionale (HP-SEC). I cromatogrammi vengono acquisiti alla lunghezza d'onda di 214 nm. Tutti i campioni vengono diluiti alla stessa concentrazione di carbonio organico totale (1 g/L TOC) nella fase mobile e filtrati a 0,2 µm prima di essere iniettati in colonna (20 µL).

Per la curva di taratura standard, vengono impiegati dei polipeptidi con peso molecolare nominale compreso tra 1,35 (vitamina B12) e 670 (tiroglobulina) kDa.

AMMINOACIDI LIBERI

Gli amminoacidi liberi (AAL) vengono estratti mettendo a contatto gli idrolizzati proteici con HCl 0,1 M per 1 ora e quindi determinati sull'estratto filtrato a 0,45 µm per cromatografia in fase liquida ad alte prestazioni (HPLC) dopo derivatizzazione con 9-fluorenilmetossicarbonil cloruro (FMOC-CL), in accordo con Cunico et al. (1986).

GRADO DI RACEMIZZAZIONE

Il grado di racemizzazione (RD) viene calcolato sulle forme chirali dell'alanina libera (D-ala e L-Ala) in accordo con il metodo proposto da Cavani et al. (2003). Gli idrolizzati proteici vengono diluiti in acqua deionizzata e sul filtrato a 0,45 µm vengono determinate le forme chirali dell'alanina libera per elettroforesi capillare ad alte prestazioni (HPCE) utilizzando β-ciclodestrina come selettore chirale e cloruro di dansile come derivatizzante.

ILSA S.p.A.

*Via Quinta Strada, 28
36071 - Arzignano (VI) Italia
Sede legale: Via Roveggia, 31 - 37136 - Verona*

*Tel. +39 0444 452020
Fax +39 0444 456864*

*www.ilsagroup.com
ilsagroup@ilsagroup.com*

