

ANNALI DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

METODI DI ANALISI

Frumento, Farina di frumento, Pane, Paste alimentari, Farine
ed estratti di malto, Lieviti, Condimenti per panificazione

TERZA EDIZIONE

A CURA DI

FRANCESCO MUNTONI

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ - V.le REGINA ELENA, 299 - ROMA

Il presente fascicolo a cura del Prof. F. Muntoni è dedicato a una branca della chimica bromatologica, riguardante gli alimenti derivati dai cereali, che in Italia presentano un interesse fondamentale. Nella compilazione si è tenuto conto dei progressi verificatisi nelle indagini ad essi connesse sino all'anno in corso, venendo così ad aggiornare le due precedenti edizioni pubblicate rispettivamente nel 1956 e nel 1960 a cura di F. Di Stefano, F. Lintas-Simoncelli, F. Muntoni e D. Renzi.

Una raccolta di metodi non deve, ovviamente, essere considerata come un lavoro originale che proponga alla discussione qualche novità, ma deve, al contrario, indicare solo quelle tecniche che, per comprovata sperimentazione, diano garanzia di sicurezza e di validità.

Tutti i metodi presentati sono in uso presso l'Istituto Superiore di Sanità, ove la loro adozione è stata decisa dopo accurati controlli.

Come avviene per ogni raccolta di metodi, sia in Italia che all'estero, può accadere che per una singola determinazione venga indicato più di un metodo. Ciò non significa che nella determinazione in questione esistano incertezze, ma, che, sulla base di una eguale validità, si lascia all'analista la scelta della metodica più confacente alla sua preparazione e alla disponibilità di attrezzature.

I - FRUMENTO

Prelevamento dei campioni

Il campione occorrente per l'esame del frumento deve essere prelevato in modo da rappresentare nella maniera più precisa la media delle caratteristiche di tutta la partita.

Le determinazioni che generalmente si eseguono sono le seguenti:

Analisi

1) *Peso per ettolitro.* — Si determina mediante la bilancia pesagrano del volume di ml 250.

2) *Impurezze.* — Da g 100 di frumento, per mezzo di una pinza, si asportano tutte le impurezze presenti, il cui peso in grammi, rappresenta la percentuale.

Le impurezze si dividono in utilizzabili e inutilizzabili; delle prime fanno parte i chicchi di altri cereali (corpi farinosi) e altri semi come lino, veccia ecc. (corpi non farinosi). Le impurezze inutilizzabili sono costituite da sporcizia, terra, sassi, semi estranei nocivi e simili.

Si determinano inoltre le percentuali dei chicchi di frumento germogliati, fermentati, cotti, tarlati e, per i grani duri, le percentuali di chicchi bianconati, atteneriti, ricellati, pinti.

3) *Umidità.* — 100 g di frumento privo di impurezze vengono macinati; si prelevano g 10 del macinato e si seccano in stufa a 130° C per 90 min. entro pesafiltro tarato. Dalla perdita di peso si calcola la percentuale di umidità.

4) *Glutine.* — Si macinano finemente circa g 100 di frumento privo di impurezze; se ne prelevano g 25 e su questi si determina il glutine nel modo che sarà descritto per la farina (II, 7).

II - FARINA

Prelevamento dei campioni

Per le farine chiuse in sacchi, si ottiene il campione prelevando la farina sia dalle parti periferiche che dalle parti centrali di diversi sacchi e mescolando poi intimamente le varie porzioni. Per le farine che si trovano in casse, o altrimenti ammucchiate, devono prelevarsi, in punti diversi della massa, porzioni che poi si riuniscono e si mescolano intimamente. Dalla miscela così ottenuta si prelevano tre campioni di g 200 ciascuno. Per la proporzionalità del campione all'entità della partita valgono le norme adottate dalla Association internationale de chimie céréalière (Norme olandesi Farinenblatt NEN 3112).

Poichè è necessario garantire i campioni dall'assorbimento o dalla perdita di acqua, essi devono essere posti in barattoli di vetro a chiusura perfetta. Mancando di recipienti di vetro, si potranno adoperare sacchetti di carta resistente. Usando una bilancia sensibile al decigrammo, si determinerà, con la massima esattezza, « il peso lordo » dei singoli campioni. È bene che anche il Laboratorio, al quale è inviato il campione per l'analisi di prima istanza, appena questo è arrivato, ne controlli il peso segnandolo sull'involucro unitamente alla data di esecuzione della pesata. Il peso di ciascun campione, oltre che sull'involucro, dovrà anche essere segnato nel verbale di prelevamento.

Per la chiusura dei sacchetti dovrà escludersi la ceratacca.

È da sconsigliare l'uso di sacchetti di materiale plastico (politene, polivinile e simili).

I campioni devono essere prelevati da sacchi sigillati o chiusi in modo tale da non ingenerare dubbi sull'identificazione del molino produttore. In caso diverso, converrà eseguire il prelievo direttamente presso il molino.

I campioni debbono essere confezionati in modo da garantirne l'autenticità ed evitare ogni manomissione: su ciascun involucro dovrà essere apposta la firma del detentore della farina o di chi lo rappresenta e di chi esegue il prelevamento.

Analisi

1) *Esame organolettico:*

a) Questo esame riguarda l'aspetto, il colore, l'odore ed il sapore della farina e l'eventuale presenza di impurezze grossolane e di parassiti.

L'odore si avvertirà meglio facendo bollire la farina con la soda caustica al 5 % (3 g : 10 ml).

b) *prova di Pekar* - Questa prova ha lo scopo di facilitare e rendere più netto l'apprezzamento del colore della farina. Una piccola quantità di farina viene stratificata con spessore uniforme di circa 3 mm su una lastra di vetro o su una tavoletta di ebanite o di legno verniciato in nero.

La superficie viene poi compressa con una lastra di vetro. Si taglia l'eccesso di farina ai lati in modo da ottenere una forma rettangolare : poi si immerge lentamente la tavoletta nell'acqua, tenendola leggermente inclinata, e vi si mantiene per circa un minuto, cioè fintanto che dalla farina non si prigionino più bollicine di aria, indi se ne osserva il colore.

Questa prova è maggiormente conclusiva se eseguita in confronto tra la farina in esame e una sicuramente rispondente alle caratteristiche fissate dalle disposizioni in vigore.

2) *Determinazione dell'umidità :*

a) 10 g di farina esattamente pesati in pesafiltri del diametro di circa cm 8 vengono seccati in stufa a 105° C fino a costanza di peso ; dalla perdita di peso si calcola la percentuale di umidità.

b) 10 g di farina esattamente pesati si stendono in strato uniforme entro un basso piattello di alluminio del diametro di mm 85, previamente tarato in pesafiltri. Si fa seccare per 60 minuti in stufa ad aria termoregolata alla temperatura di 130°-135° C e, dopo raffreddamento del piattello entro il pesafiltri chiuso, in essiccatore a cloruro di calcio, si ripesa. Dalla perdita di peso si calcola la percentuale d'umidità.

3) *Determinazione delle ceneri.* - 10 g di farina esattamente pesati vengono carbonizzati a piccola fiamma in capsula di platino o di porcellana, preventivamente tarata entro pesafiltro ; indi si inceneriscono in muffola, curando di non sorpassare la temperatura di 550°-575° C per evitare la fusione delle ceneri. Se dopo circa 6 ore di incenerimento in muffola le ceneri non si presentano bianche o leggermente grigie, si riprendono nella capsula stessa con qualche goccia di acqua distillata, si evapora cautamente a bagnomaria, si essicca, si completa l'incenerimento in muffola e si pesa.

Se per la determinazione dell'acqua la farina viene posta in una capsula di platino o di porcellana, preventivamente tarata in pesafiltro, per la determinazione delle ceneri si può utilizzare la farina essiccata. Il valore trovato deve essere riferito a 100 parti di sostanza secca.

4) *Determinazione delle ceneri insolubili in acido cloridrico.* - Le ceneri vengono trattate a caldo con ml 10 di acido cloridrico al 10 %. Il residuo si raccoglie su filtro a ceneri note, si lava, si calcina e si pesa. Il valore trovato deve essere riferito a 100 parti di sostanza secca.

5) *Ricerca delle sostanze minerali estranee.* — Queste possono trovarsi nelle farine per imperfetta pulitura o per sofisticazione. La ricerca generica di tali sostanze si esegue in questo modo : g 10 di farina si introducono in un provettone di vetro del diametro di 2-3 cm e lungo circa cm 20, si riempie quasi il provettone con cloroformio, si agita con cura e si lascia in riposo in posizione verticale. Se sono presenti sostanze minerali estranee, queste si depositano in fondo al tubo, mentre la farina si raccoglie alla superficie del liquido.

La determinazione quantitativa si esegue operando nello stesso modo su g 50 o 100 di farina a seconda della quantità rilevata nel saggio precedente, usando però un imbuto separatore. La parte depositatasi in fondo all'imbuto si raccoglie su filtro senza ceneri, si lava con cloroformio, si calcina e si pesa. Il valore trovato deve essere riferito a 100 parti di sostanza secca.

La ricerca qualitativa ed eventualmente il dosaggio delle singole sostanze estranee si effettua sulle ceneri seguendo i metodi usati nella chimica analitica.

6) *Determinazione dell'anidride fosforica.* — 10 g di farina si inceneriscono in muffola, si insolubilizza la silice aggiungendo acido cloridrico concentrato e portando a secco due o tre volte. Il residuo si riprende con acqua acidulata con acido nitrico, si filtra, lavando accuratamente con acqua la capsula ed il filtro. Il filtrato si porta a secco su bagno-maria e si riprende con ml 20 di acqua distillata.

5 ml della soluzione (1) in becher da ml 250 si diluiscono a ml 25 con acqua ; si aggiungono ml 25 di miscela di acido nitrico e solforico (2). Si riscalda agitando fino all'ebollizione e, dopo avere allontanata la fiamma, si precipita con 50 ml di molibdato di ammonio (3). Si lascia riposare in luogo oscuro per 5 ore. Si filtra attraverso un crogiolo di porcellana a setto poroso del tipo Berlin A, e si lava prima quattro volte con ml 10 di soluzione di nitrato di ammonio al 2 %, poi tre volte con ml 10 di alcool al 96 %, ed infine con 10 ml di etere anidro. L'alcool e l'etere per il lavaggio non devono dare reazione alcalina. Il crogiolo, asciugato esternamente, si essicca per un'ora in essiccatore privo di mezzo essiccante sotto un vuoto di 80-100 mm di

(1) A. BAURLE, W. RIEDEL & K. TAÜFEL. *Z. Untersuch. Lebensm.*, 67, 274 (1934).

(2) 3 ml di acido solforico concentrato si devono portare a ml 100 con acido nitrico al 32-33 %.

(3) 10 g di solfato di ammonio sono sciolti in ml 100 di acido nitrico di concentrazione 57-58 % (p. sp. 1,36) e g 30 di molibdato di ammonio in ml 80-90 di acqua (portati a ml 100 dopo raffreddamento). Si fa cadere la soluzione di molibdato in filo sottile sulla soluzione di solfato di ammonio, rimescolando ; si lascia la soluzione in riposo almeno due giorni e si filtra.

La soluzione si mantiene valida per un tempo illimitato purchè conservata in bottiglia scura ed al riparo, per quanto possibile, dalla luce.

mercurio. Si pesa il crogiolo, precedentemente tarato nelle medesime condizioni. Si moltiplica il peso del precipitato per il fattore 0,0144 e si ha il peso in fosforo, che viene riferito ai ml 20 di soluzione totale (corrispondente a g 10 di farina). Tale valore viene poi riferito a g 100 di farina anidra, e moltiplicato per il fattore 2,298 per ottenere il corrispondente valore dell'anidride fosforica.

7) *Determinazione del glutine.* — Si fa uso di una soluzione ottenuta come segue: si prepara prima una soluzione di cloruro sodico (esente da magnesio) al 2 %; poi, servendosi di questa soluzione come solvente, si preparano due soluzioni al 4 % (di sale anidro), una di fosfato bisodico e una di fosfato monosodico, e si mescolano in rapporto tale da ottenere pH uguale a 6,8; questa soluzione va diluita nel rapporto 1/40 con la soluzione di cloruro sodico precedentemente preparata (per ottenere la concentrazione di 0,1 % di miscela fosfatica anidra). La soluzione si conserva a 18°.

25 g di farina si impastano in un mortaio con ml 12-13 della soluzione predetta in modo da ottenere un impasto omogeneo che si lascia riposare per circa mezz'ora nel mortaio stesso ricoperto con un vetro di orologio. Dopo il riposo si manipola l'impasto sotto un sottile getto della soluzione predetta alla temperatura di circa 18° C facendo cadere il liquido di lavaggio sopra un setaccio a maglia fitta in modo da poter raccogliere le particelle di pasta o di glutine che eventualmente sfuggissero durante la manipolazione. Quando il liquido di lavaggio comincia ad essere abbastanza limpido si aumenta il getto e quando esso è limpido, quando cioè tutto l'amido è asportato, l'operazione è terminata. Il glutine così ricavato si lascia per 5 minuti in un piccolo bicchiere pieno d'acqua di fonte, dopo di che si strizza tra due vetrini di orologio, se ne osservano i caratteri organolettici, e si pesa.

Quindi il glutine si secca nel vuoto (1-2 mm Hg) a 80° C seguendo le indicazioni di D. Marotta e A. Vercillo (1).

Il peso ottenuto moltiplicato per 4 dà il glutine secco per cento di farina, valore che va poi riferito a 100 parti di sostanza secca.

Non disponendo di un apparecchio per disseccare nel vuoto il glutine, esso si stende su un vetro di orologio tarato e si secca in stufa a 105° C per circa 20 ore; si pesa, si detrae dal peso trovato quello del cloruro di sodio rimasto nel glutine (e corrispondente al 2 % dell'acqua evaporata) e si riferisce a 100 parti di farina secca.

Qualora sia sufficiente una valutazione soltanto approssimativa, si pesa il glutine umido ed il suo peso riferito a 100 parti di sostanza secca viene diviso per 3, assumendo che il glutine secco sia all'incirca la terza parte di quello umido.

(1) D. MAROTTA & A. VERCILLO, *Ann. Chim. Appl.*, **22**, 775 (1932).

8) *Determinazione dell'azoto.* — Si applica il metodo Kjeldahl-Ulsch, impiegando g 2 di farina, ml 25 di acido solforico concentrato ($d = 1,84$), g 10 di solfato di potassio e g 0,5 circa di ossido di rame. Si titola con idrato sodico N/10 usando come indicatore il metilarancio. Il valore dell'azoto, moltiplicato per 5,70, dà quello delle sostanze azotate. Il valore ottenuto deve essere riferito a 100 parti di sostanza secca.

9) *Determinazione della cellulosa* ⁽¹⁾. — In un palloncino a fondo rotondo della capacità di circa ml 100, al cui collo si adatta a smeriglio un tubo di vetro lungo un metro e del diametro di cm 0,5 che funziona da refrigerante, si introducono ml 15 di una miscela preparata con ml 45 di acido acetico all'80% in peso e ml 5 di acido nitrico concentrato ($d = 1,4$) e, per mezzo di un imbuto a coda corta, si introducono nel palloncino g 3 di farina e quindi ml 35 della miscela acida con la quale si lava l'imbuto. Applicato il tubo refrigerante, si scalda il palloncino su reticella a piccola fiamma per evitare la possibile carbonizzazione della farina che in un primo tempo si raccoglie la fondo del recipiente. Dopo qualche minuto di riscaldamento, quando la sostanza è salita alla superficie del liquido che comincia a bollire, si diminuisce la fiamma e si mantiene per 25 minuti il liquido a una ebollizione moderata, in modo da non avere fuoriuscita di vapori dal tubo refrigerante. Durante il riscaldamento, di tanto in tanto si agita leggermente il palloncino per portare nel liquido le particelle aderenti alle pareti.

Il liquido caldo si filtra alla pompa attraverso un crogiolo di alundum del tipo Norton, n. 5204 R.A. 98 e, allo scopo di evitare che il liquido acido attacchi la gomma, si pone una striscia di carta da filtro fra il crogiolo e l'anello di gomma, avendo comunque cura, durante la filtrazione, di versare il liquido a piccole porzioni in modo da mantenere il livello al di sotto dell'anello. Il palloncino si lava con ml 10 della miscela acida e indi con altrettanta acqua bollente. I liquidi di lavaggio vengono filtrati attraverso il crogiolo, dopo di che si lava ancora con ml 20 di alcool e quindi con ml 20 di etere etilico. Dopo il passaggio dell'etere, si lava ancora con acqua bollente fino a scomparsa della reazione acida dalle pareti del crogiolo. In genere è sufficiente mezzo litro di acqua. Terminato il lavaggio, il crogiolo viene seccato per 3 ore in stufa a 105° e dopo il raffreddamento in essiccatore a cloruro di calcio, pesato entro pesafiltro. Si riscalda quindi il crogiolo a piccola fiamma finchè tutta la cellulosa sia bruciata, si calcina e si ripesa. Dalla differenza fra le due pesate si calcola la percentuale di cellulosa.

In caso di mancanza del crogiolo si potrà adoperare un filtro senza ceneri del diametro di cm 9, che deve in precedenza essere così preparato: si versano sul filtro, collocato su imbuto di vetro munito di rubinetto, ml 25 della

(1) L. BELLUCCI. *Ann. Chim. Appl.*, **22**, 25 (1932).

suddetta miscela acida di attacco, quasi bollente, e si fanno rimanere in contatto per 5 minuti. Si apre il rubinetto lasciando filtrare il liquido, si lava il filtro con altri ml 25 della miscela acida calda e poi con acqua calda, fino a scomparsa della reazione acida (indicatore metilarancio). Si essicca in stufa e si pesa il filtro secco entro pesafiltro.

Raccolta la cellulosa sul filtro così trattato, decantando in modo che la silice eventualmente presente rimanga nel palloncino, si lava con ml 15 della miscela acida calda; quindi con precauzione, per evitare la rottura del filtro, con acqua calda fino a scomparsa della reazione acida. Si lava il filtro con ml 20 di alcool, quindi con ml 20 di etere, si essicca in stufa per circa un'ora a 105°, dopo di che si lascia raffreddare e si pesa in pesafiltro, calcolando dall'aumento di peso la percentuale di cellulosa.

10) *Determinazione degli zuccheri riducenti e degli zuccheri facilmente invertibili (saccarosio)* (1). — 50 g di farina vengono posti in una beuta di ml 500 e uniformemente mescolati con ml 150 di una soluzione che contiene ml 25 di acetato basico di piombo. Si lascia a sè per 15 minuti, agitando di tanto in tanto. Si aggiungono ml 100 di soluzione di solfato di sodio al 15 % (sale cristallizzato), si mescola, si lascia depositare e si filtra. Su ml 50 del filtrato si determinano gli zuccheri riducenti come si dirà oltre; altri ml 50 si mettono in un palloncino da ml 100, si aggiungono ml 5 di acido cloridrico ($d = 1,10$) e si tiene il pallone per 15 minuti su b. m. a 68-70° C, indi si raffredda, si neutralizza con idrato sodico al 10 % circa (indicatore fenolftaleina), si porta a volume e si filtra; su ml 50 di filtrato si determinano nuovamente gli zuccheri riduttori, come zucchero invertito. Il quantitativo trovato, detratti gli zuccheri riduttori preesistenti, si calcola come saccarosio.

Per il dosaggio degli zuccheri riduttori si esegue il metodo Intonti (2) parzialmente modificato per il fatto che esso ha una sensibilità minima di 10 mg di zucchero invertito, quantità superiore a quella contenuta in 50 ml di estratto di farina così ottenuto.

In una beuta da ml 200 si effettua nel modo consueto la riduzione del liquido di Fehling, seguendo le modalità stabilite per lo zucchero invertito. Finita l'ebollizione si lascia depositare l'ossidulo di rame e si decanta in un crogiolo di porcellana a fondo poroso, operando con una leggera aspirazione. Si lavano ripetutamente la beuta e la parte di ossidulo di rame rimastovi dentro, con piccole quantità di acqua, che si fanno passare attraverso il crogiolo, il quale viene poi applicato ad un'altra beuta da vuoto da circa ml 100. Nel recipiente in cui si è effettuata la reazione, si versano pochi centimetri cubici (bastano anche quattro o cinque) di acido nitrico al 30 %; si scalda

(1) A. VERCIULO, *Ann. Chim. Appl.*, **25**, 380 (1935).

(2) R. INTONTI, *Ann. Chim. Appl.*, **20**, 583 (1930).

cautamente ed agitando, e si versa nel crogiolo. Quando l'ossidulo di rame è disciolto si pratica una leggera aspirazione e, dopo che la soluzione è passata, si lavano successivamente la beuta da cui si è versato il liquido ed il crogiolo con piccole porzioni di acqua che si uniscono alla soluzione nitrica. Questa, infine, si tratta con ammoniaca fino a colorazione azzurra, si allontanano i fumi della beuta, si acidifica con un piccolo eccesso di acido solforico diluito (un volume acido concentrato e tre di acqua); si aggiungono g 0,5-1,0 di urea e (dopo avere agitato e controllato, con una goccia di soluzione molto diluita di permanganato potassico, l'avvenuta scomparsa degli ossidi di azoto) g 0,5-1,0 di ioduro di potassio. Lo iodio che si libera viene titolato con soluzione di iposolfito sodico 0,05 N da cui si calcola lo zucchero dopo aver fatto una opportuna taratura.

11) *Determinazione della destrina.* — 10 g di farina si introducono in un pallone da ml 200, si porta a volume e, dopo avere bene agitato, si lascia depositare un po' la farina. Si filtra e su una parte del filtrato si opera l'inversione della destrina (tre ore in bagno-maria bollente con refrigerante a ricadere, dopo aggiunta di ml 10 di acido cloridrico $d = 1,125$). Si neutralizza il liquido, si porta a volume noto e si determinano gli zuccheri riducenti col solito metodo. Il risultato si calcola in glucosio per cento di farina: vi si detrae la percentuale di zuccheri riducenti e di saccarosio calcolato in glucosio: la differenza moltiplicata per 0,9 rappresenta la percentuale di destrina.

12) *Determinazione dell'amido.* — 3 g di farina dispersi in ml 40 di acqua si riscaldano per tre ore in una boccia di Lintner a 130-140° C in bagno di paraffina. Dopo raffreddamento si versa il liquido in un palloncino da ml 250 e si lava accuratamente la boccia con ml 40-50 di acqua che si versano pure nel palloncino. Si aggiungono ml 20 di acido cloridrico concentrato e si fa bollire per mezz'ora a ricadere in modo da trasformare gli amidi in zuccheri. Si fa raffreddare rapidamente il liquido, si neutralizza con potassa al 20%, si chiarifica con qualche goccia di acetato basico di piombo e si porta al volume di ml 200 in palloncino tarato. Si lascia riposare, si filtra e nel filtrato si determinano gli zuccheri col solito metodo. Dal valore così ottenuto (calcolato in glucosio), si detrae il valore degli zuccheri ottenuto nella determinazione precedente. La differenza, moltiplicata per 0,9, darà la quantità di amido presente.

13) *Determinazione dei pentosani.* — 5 g di farina si pongono con ml 100 di acido cloridrico ($d = 1,07$) in un palloncino da ml 300 con tappo a due fori, attraverso uno dei quali passa un imbuto graduato a rubinetto, attraverso l'altro un tubo a squadra collegato ad un refrigerante. Si scalda a 150° C su bagno di olio fino a distillare ml 30. Senza interrompere la distil-

lazione si aggiungono, mediante l'imbuto, ml 30 di acido cloridrico, si raccolgono altri ml 30 di distillato e si ripetono le aggiunte di acido cloridrico finchè tutto il furfurolo sia stato distillato. Non vi è più furfurolo quando una goccia del liquido distillato non colora in rosso una cartina imbevuta di acetato di anilina. Al distillato si aggiungono g 0,4 di floroglucina sciolta in acido cloridrico ($d = 1,06$), e poi acido cloridrico fino al volume di ml 100 e si lascia riposare per 15-18 ore. Precipita il floroglucide del furfurolo. Per accertarsi della completa precipitazione si saggia una goccia di liquido con la cartina all'acetato di anilina; se il furfurolo non fosse tutto precipitato si aggiunge un altro po' di floroglucina. Il precipitato si raccoglie dopo il riposo su un filtro tarato e seccato a 100°C; si secca a 100°C per 3-4 ore e si pesa in pesafiltro.

14) *Determinazione dell'acidità.* — 4 g di farina si introducono in una beuta a tappo smerigliato della capacità di circa ml 500 con ml 100 di alcool al 50 % esattamente neutralizzato. Si agita e si ripete l'agitazione di tanto in tanto. Dopo 3 ore si decanta su filtro Schleicher e Schull 589/2 e ml 50 del filtrato limpido si titolano con alcali N/50, indicatore la fenolftaleina (tre gocce di soluzione alcolica all'1 %). Il grado di acidità corrisponde al numero di millilitri di alcali normale occorrente per neutralizzare g 100 di sostanza secca.

15) *Determinazione dell'estratto etero.* — 10 g di farina si seccano in stufa a 105°C entro un ditale di carta tappato con ovatta e si estraggono quindi in apparecchio Soxhlet con etere etilico anidro per circa 8 ore; si distilla l'etere e si pesa il residuo, dopo averlo seccato in stufa ad aria per un'ora.

16) *Riconoscimento degli imbiancanti* (1). — 5-6 g di farina di stratificano su di un vetro da orologio o su una lastra di vetro in modo da avere una superficie piana su cui si versano, in punti diversi, alcune gocce dei reattivi speciali.

a) *Ossido di azoto* — Reattivo di Griess. Colorazione rosca.

b) *Bromati* — Reattivo: soluzione al 0,10 % di o-tolidina in alcool a 95° mescolata a parti eguali con acido cloridrico al 10 %. Macchie brune con aureola gialla.

c) *Iodati* — Reattivo: soluzione acquosa satura di solfato ferroso acidificata con acido solforico diluito. Macchie azzurro-violacee.

d) *Perossidi metallici* — Reattivo: soluzione solforica di biossido di titanio. Macchie gialle.

e) *Perborati* — Si scalda la farina in stufa a 100°C per pochi minuti; per aggiunta di fenolftaleina: punti rossi.

(1) A. CALÒ & F. MUNTONI, *Ann. Chim. Appl.*, **28**, 39 (1938).

f) *Persolfati* — Reattivo: soluzione acquosa neutra di ioduro di potassio. Macchie brune.

Tutti gli imbiancanti citati, eccetto gli ossidi di azoto, trattati con soluzione di ioduro di potassio acidificata con acido solforico danno delle macchie brune.

g) *Perossido di benzoile* — Reattivi: a) soluzione al 0,5 % di cloridrato di dimetil-p-ferilendiammina in alcool assoluto. Striscie rosso-bluastrre più evidenti nello strato inferiore del saggio; b) ml 1 di soluzione satura di ioduro di potassio in ml 20 di alcool metilico (*). Macchie gialle che passano rapidamente al bruno-aranciato e quindi al bruno.

h) *Cloro* — Un filo di rame ossidato, bagnato nel grasso estratto dalla farina, impartisce alla fiamma del becco Bunsen una colorazione verde.

17) *Ricerca dell'acido L-ascorbico*. — Su alcuni grammi di farina, stratificati sopra un vetrino da orologio, si versano alcune gocce del reattivo di Tauber modificato da Hayden (2) nel seguente modo: a un grammo di FeSO_4 sciolto in ml 50 d'acqua distillata si aggiungono ml 10 di H_3PO_4 all'85 %, si scalda all'ebollizione e si ossida con soluzione a 1 % di KMnO_4 sino a colorazione rosa persistente. Si raffredda e si aggiunge cautamente NaOH al 20 % sino a torbidità permanente, si chiarifica con H_2SO_4 al 10 %, si porta a 100 ml e si filtra. Al filtrato si aggiungono g 0,5 di $\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$ sciolti in ml 100 di acqua distillata. Il reattivo, di color giallo, si conserva valido sino a che non muti di colore e può durare anche oltre tre mesi.

Se acido L-ascorbico è stato addizionato alla farina sulla superficie trattata si formano macchie bleu-verdastre molto intense.

Esame microscopico

0,5-1 g di farina si pongono in un tubo da saggio con ml 15-20 di acqua. Si agita fortemente, si lascia depositare la parte più pesante e si decanta il liquido torbido. Con una pipetta si pongono una o due gocce del liquido sul portaoggetti, si applica il coprioggetti, esercitando su di esso una lievissima pressione centrale ed asciugando con carta bibula il liquido uscente dai bordi. È indispensabile ripetere più volte i preparati, tenendo presente che dopo breve tempo la sospensione non è più adatta per l'osservazione microscopica per il rigonfiamento dei granuli di amido e per la scissione delle forme composte caratteristiche, eventualmente presenti.

L'esame microscopico deve essere possibilmente eseguito a luce ordinaria con ingrandimento di 350-400 diametri.

(1) F. MENTONI, *Rend. Ist. Super. Sanità*, **9**, 139 (1946).

(2) K. J. HAYDEN, *Analyst*, **81**, 376 (1956).

Le caratteristiche morfologiche dei diversi amidi vengono chiaramente mostrate nelle fotografie annesse.

L'arricchimento dei preparati, specialmente in riguardo alla ricerca delle forme composte del riso, si esegue mescolando g 2-3 di farina con ml 50 di acqua in bicchiere a calice. Si agita energicamente con bacchetta di vetro e dopo riposo di 5 minuti si decanta il liquido lattiginoso in altro bicchiere in cui si lascia riposare altri 5 minuti, decantandolo poi in un terzo bicchiere e così in un quarto, avendo cura di non trasportare da un bicchiere all'altro il sedimento che si è formato in ciascuno di essi nei 5 minuti di riposo.

La ricerca del riso si esegue sul sedimento del terzo bicchiere.

Caratteristiche degli amidi.

I vari amidi differiscono fra loro per la forma dei granuli o dell'ilo, per la grandezza, per la maggiore o minore evidenza della stratificazione e per il diverso tipo di aggruppamenti.

La forma può essere rotonda (frumento), ovale (leguminose), allungata (patata), poliedrica (mais).

L'ilo, che si riscontra in tutti i tipi di amido, è molto pronunciato nel mais, leguminose, segale, ecc., poco o nulla visibile nel frumento, riso, ecc. Esso può essere puntiforme (patata, riso), stellato (segale, mais), a forma di fessura più o meno regolare (leguminose). Può trovarsi al centro dei granuli (mais, segale) e può essere eccentrico (patata).

La grandezza dei granuli di amido varia da circa 5μ a più di 50μ di diametro. Sono grandi i granuli di diametro superiore a 30μ , medi quelli di circa 20μ e piccoli quelli con diametro inferiore ai 10μ . Però parecchi amidi mostrano granuli di diverse grandezze.

La stratificazione, che si presenta come una serie di giri concentrici attorno all'ilo, può essere molto visibile come nelle leguminose, poco come nell'orzo o affatto visibile come nel riso. Riguardo al raggruppamento, i granuli di amido possono essere semplici o composti. I granuli composti constano di un numero assai variabile di granuli riuniti a formare una specie di mosaico.

Nelle tavole fuori testo sono illustrati i più importanti tipi di amido. L'ingrandimento è di circa 400 diametri.

Amidi di cereali.

a) *Frumento.* — Granuli isolati, in genere grandi, di forma rotonda, lenticolare; in minor misura i granuli sono piccoli, quasi sferici o di forma leggermente irregolare. Si riscontrano di rado raggruppamenti di 3 o 4 granuli piccoli poligonali, come pure dei piccoli granuli ovali.

L'ilo e la stratificazione non sono in generale visibili.

b) *Segale*. — Granuli isolati, rotondi e lenticolari, come quelli del frumento, ma di essi più grandi perchè possono raggiungere i 50μ di diametro. Accanto ai granuli grandi se ne trova buona quantità di dimensione decrescente fino a $5-6\mu$ di diametro. Parte dei granuli grandi mostra un grande ilo centrale stellato a 3, 4 o 5 punte.

c) *Orzo*. — Granuli isolati, simili per grandezza e forma a quelli del frumento. Alcuni dei granuli grandi sono reniformi. Spesso è visibile, specie mediante colorazione con iodio, una leggera stratificazione.

d) *Mais*. — Granuli isolati poliedrici o di forma rotondeggiante irregolare. Ilo centrale prevalentemente stellato a tre punte (raramente a 4 o 5): spesso esso si presenta come una macchia irregolare. A causa del notevole spessore, i granuli mostrano delle sfaccettature.

I granuli presentano una notevole uniformità di dimensioni ($15-20\mu$). Si possono riscontrare degli ammassi irregolari a mosaico. I granuli non hanno stratificazione.

e) *Riso*. — Granuli piccoli (diam. $5-6\mu$) poliedrici, raramente con ilo puntiforme. Essi sono isolati o composti in raggruppamenti irregolari di numero variabilissimo o in forma caratteristica di rosette che constano di un granulo centrale circondato da uno o più ordini di granuli periferici. Le dimensioni sono assai uniformi. I granuli di riso hanno una trasparenza molto forte.

f) *Avena*. — L'amido di avena è, per forma e tipo di aggruppamento, simile a quello di riso. Ne differisce per le maggiori dimensioni (diam. di circa 10μ). Si riscontrano anche, in piccola misura, granuli ovoidali con le estremità più o meno appuntite.

Amidi di leguminose.

Gli amidi di leguminose sono per le loro caratteristiche nettamente differenziabili dagli altri amidi: è difficile però l'individuazione delle singole leguminose. Caratteristiche degli amidi di leguminose: granuli isolati di grandezza notevole (oltre 70μ di diametro), forme allungata più o meno regolare: ilo irregolare e stratificazione in generale ben evidente.

a) *Fave*. — Granuli di grandezza elevata, di forma allungata o tricuspidale. L'ilo, non sempre visibile, è lineare ma irregolare e sfracgiato. Stratificazione in genere evidente.

b) *Fagioli*. — Granuli ellittici o reniformi (lunghezza circa 40μ). Ilo lineare, sfracgiato, in genere molto profondo ed a volte biforcuto ad una estremità. Striature assai evidenti.

c) *Ceci*. — Granuli ovali schiacciati, a volte quasi rotondi, lunghezza 25-30 μ . Ilo poco evidente, striatura visibile.

d) *Piselli*. — Granuli rotondeggianti con ilo stellato irregolare: stratificazione poco evidente.

e) *Vece*. — Granuli ovoidali piuttosto piccoli (da 2 a 5 μ di lunghezza) e contorno ben netto. L'ilo è lineare, poco sfrangiato e spesso si biforca ad entrambe le estremità, striatura spesso poco evidente.

Altri amidi.

a) *Patate*. — Granuli isolati assai grandi (possono raggiungere una lunghezza di 130 μ) a forma di conchiglia o di pera. L'ilo, puntiforme o leggermente irregolare, è situato nella parte più stretta del granulo. La stratificazione è molto evidente.

b) *Manioca*. — Granuli isolati di grandezza media e di forma rotondeggianti che si uniscono in piccolo numero per dare forme composte. I granuli isolati provengono dalla scissione di forme composte e pertanto essi sono appiattiti o poligonali lungo le linee di scissione a seconda della provenienza da una forma composta di due o più granuli. Ilo centrale, irregolare; stratificazione non visibile.

IV - PANE

Prelevamento dei campioni

Per il pane debbono prelevarsi tre campioni di pani interi ed il prelievo deve essere fatto tra i quantitativi posti nei locali della vendita al pubblico. I campioni debbono essere scelti avendo riguardo alla media delle caratteristiche del pane poste nel locale di vendita al pubblico.

La quantità di pane non dovrà in nessun caso essere inferiore a g 200 per ciascun campione. Si prelevino sempre pani interi. I campioni debbono involgersi in carta resistente e vanno pesati al lordo con bilancia sensibile almeno al decigrammo.

Per la chiusura di questo primo involuoco dovrà escludersi la ceramica.

Non si dovranno mai adoperare sacchetti di materiale plastico (polietilene, polivinile e simili).

È bene che anche il Laboratorio, al quale è inviato il campione per l'analisi di prima istanza, appena questo è arrivato, ne controlli il peso segnalandolo sull'etichetta, unitamente alla data di esecuzione della pesata.

Il peso di ciascun campione, oltre che sull'etichetta, deve anche essere segnato sul verbale di prelevamento. Inoltre il prelevatore deve segnare sul verbale di prelevamento la percentuale di lievito compresso impiegata nella confezione del pane prelevato.

I campioni posti in involuoco vengono suggellati e firmati dal detentore del pane o da chi lo rappresenta e da chi esegue il prelevamento.

Analisi

Prima di iniziare l'analisi si pesa esattamente al lordo il campione per stabilire così la eventuale perdita di acqua e tenerne conto nel calcolo.

1) *Esame organolettico.* — Si osservano: il grado di cottura, l'uniformità ed il colore della crosta, la porosità e l'elasticità della mollica, l'odore, il sapore, la presenza di muffe ecc.

2) *Determinazione dell'umidità.* — A seconda del peso della forma in esame, la determinazione verrà eseguita sull'intero campione o su parte di esso, non adoperando mai quantità inferiori a g 100.

Per le varie determinazioni analitiche da compiersi la crosta e la mollica devono essere il più possibile mantenute nello stesso rapporto in cui sono contenute nel pane.

Le forme di peso inferiore a g 200 si tagliano a piccoli pezzi, si raccolgono accuratamente le briciole, si pesa, si secca in stufa a 105°C fino a costanza di peso (12 ore circa). A questo scopo rispondono bene scatole di alluminio munite di coperchio.

Le forme da g 200 a 400 si dividono in 2 parti uguali; una di queste si tratta come sopra.

Le forme da g 400 a g 800 si dividono in 4 parti con taglio a croce e la determinazione si esegue su una parte.

Le forme di oltre g 800 si dividono in 4 parti, se ne preleva una che si suddivide in fette dello spessore di circa cm 1. Su tali fette, prese alternativamente a partire da quella esterna e tagliate a piccoli pezzi, si esegue la determinazione.

Il calcolo del contenuto in umidità, va riferito al peso del pane all'atto del prelevamento.

3) *Determinazione delle ceneri.* — Il pane seccato per la determinazione dell'acqua si macina fino alla grossezza di un semolino, si tiene per 2 ore in stufa a 105°C e si conserva ben chiuso in pesafiltri entro essiccatore a cloruro di calcio. Si procede diversamente a seconda che il pane sia o no salato.

a) *Pane non contenente sale.* — Si procede come per la farina (II, 3).

b) *Pane contenente sale* ⁽¹⁾. — In una beuta della capacità di circa ml 400, si portano g 2-3 di pane secco e finemente macinato, si aggiungono non meno di ml 100 di acqua, ml 5 di acido nitrico concentrato ed un eccesso di soluzione N/10 di nitrato d'argento; si riscalda lentamente e si mantiene a leggera ebollizione per non più di una diecina di minuti, agitando di frequente: dopo raffreddamento si diluisce, se occorre, per attenuare il colore giallo e si titola l'eccesso di nitrato di argento con solfocianato di ammonio N/10, usando come indicatore una soluzione satura a freddo di allume ferrico acidificata con acido nitrico. Bisogna aver cura di non prolungare il riscaldamento oltre il necessario e di evitare una vivace ebollizione per impedire che la soluzione si colori in giallo intenso, il che rende disagiata la titolazione.

A parte si pesano in una capsula di platino o di porcellana, tarata in pesafiltro, g 5 di pane secco e macinato, si carbonizzano a piccola fiamma e si lasciano poi in muffola riscaldata a 550°-600° C per 6 ore. Si pesa di nuovo la capsula, si riprendono le ceneri con acqua acidificata con acido nitrico, si porta la soluzione in una beuta della capacità di circa ml 300, si aggiunge

(1) R. INTONTI & D. RENZI. *Ann. Chim. Appl.*, **39**, 331 (1949).

un eccesso di soluzione N/10 di nitrato di argento, si riscalda qualche minuto agitando e, dopo raffreddamento, si rititola con solfocianato. Per differenza si ha il cloro perduto durante l'incenerimento che si aggiunge al peso delle ceneri; da questa somma si detrae il cloruro di sodio ottenuto nella determinazione eseguita direttamente sul pane; si ha così il valore delle ceneri del pane esenti da cloruro di sodio.

A questo valore si deve apportare una correzione per tenere conto dell'ossigeno entrato in combinazione; basterà a tal fine sottrarre (da questo valore) il prodotto ottenuto moltiplicando 2,24 per la quantità di cloro, espressa in grammi, perduta durante l'incenerimento di g 5 di pane secco.

Dalla percentuale così ottenuta occorre ancora sottrarre l'apporto dovuto alle ceneri del lievito.

ESEMPIO

1) Cloruro di sodio in g 5 di pane secco	g 0,1078
2) Cloro in g 5 di pane secco	» 0,0654
3) Peso delle ceneri di g 5 di pane secco	» 0,1334
4) Cloro nelle ceneri	» 0,0447
5) Cloro perduto (0,0654 — 0,0447)	» 0,0207
6) Ceneri + cloro perduto (0,1334 + 0,0207)	» 0,1541
7) Ceneri + cloro perduto — cloruro di sodio (0,1541 — 0,1078)	» 0,0463
8) Ceneri, ma riferite a g 100 di pane secco	» 0,9260
9) Correzione per l'ossigeno (0,9260 — 0,046)	» 0,8800
(si sottrae il prodotto: 0,0207 per 2,24)	
10) Correzione per le ceneri del lievito (0,8800 — 0,040)	» 0,8400

4) *Determinazione della cellulosa.* — Si esegue come per la farina sul pane seccato e macinato (II, 9).

5) *Determinazione dell'azoto.* — Si esegue come per la farina (II, 8) sul pane essiccato all'aria e macinato.

6) *Determinazione degli zuccheri e della destrina.* — 10 g di pane seccato e macinato si agitano per qualche tempo in pallone tarato da ml 500 con ml 400 di acqua a temperatura ambiente, si porta a segno e si filtra. Su parti aliquote del filtrato si eseguono le determinazioni come per la farina (II, 10 e 11).

7) *Determinazione dell'acidità.* — Si esegue come per la farina (II, 14) operando sulla mollica secca macinata.

8) *Determinazione dell'estratto etereo* ⁽¹⁾. — Si esegue sul pane seccato e macinato. L'estrazione non si può eseguire direttamente come per le farine non riuscendo essa completa.

(1) A. CESARI & G. DE GIULI. *L'Italia e i Cereali*, 13, 452 (1958).

Si operi come segue :

5 g di pane seccato all'aria e macinato finemente, si pongono entro una beuta da ml 300 insieme a 25 ml di HCl N/1. Si porta la beuta, munita di refrigerante a ricadere, su bagnomaria bollente e ivi la si tiene per 30 min.

Trascorsi i 30 min., si raffredda, si neutralizza con NH_4OH e, dopo ulteriore raffreddamento, si aggiungono 20 ml di alcool etilico al 95 %. Dopo aver bene agitato si filtra alla pompa su imbuto di Buchner preparato come segue : si adatta al fondo dell'imbuto un disco di carta da filtro da quantitativa (fascia nera) di egual diametro. Sul disco di carta, sotto blanda aspirazione, si versa una sospensione acquosa preparata con g 5 di farina di diatomee lavata e sgrassata, in modo che si formi sul fondo uno strato di spessore uniforme.

Aumentata l'aspirazione, si versa a poco a poco l'idrolisato sul filtro, lavando accuratamente la beuta con acqua fredda ; la beuta si tiene quindi da parte. In circa 30 min. si riesce a ottenere un residuo umido e compatto che, con l'ausilio di una spatola, si trasferisce quantitativamente in una capsula. Il residuo viene quindi mescolato intimamente con Na_2SO_4 anidro polverulento sino a ottenere una massa granulare asciutta, che si lascia riposare in essiccatore per 2 ore (circa g 30 di solfato sodico anidro sono in genere sufficienti).

La massa si pone quindi in ditale da estrazione, che si chiude con ovatta e si avvolge in carta da filtro pure sgrassata, formando un involto che si lega strettamente con filo metallico. L'involto così preparato si trasferisce in Soxhlet e si estrae con etere etilico, avendo cura di lavare con il solvente la beuta nella quale è stata effettuata l'idrolisi. 5 ore di estrazione continua sono sufficienti.

Il palloncino nel quale si raccoglie il liquido di estrazione e che era stato preventivamente tarato dopo essiccamento in stufa a 100°C , fatto distillare il solvente, si secca in stufa a 90°C per un'ora e, dopo raffreddamento in essiccatore a cloruro di calcio, si ripesa. Dalla differenza tra le due pesate si ha la quantità di grasso contenuta in g 5 di prodotto, quantità che si riporta poi a 100 parti di sostanza secca.

9) *Ricerca di tensioattivi poliossietilenici* ⁽¹⁾. — 25 g di pane macinato ⁽²⁾ si trattano in pallone con refrigerante a ricadere per 30 minuti su bagnomaria bollente con 50 ml di alcool isopropilico. Si filtra a caldo per filtro a

(1) F. MUNTONI, C. IACOBELLI-TURI & G. DE GIULI. *Rass. Chim.*, 41, fasc. 4, 17 (1959).

(2) Il quantitativo di pane può naturalmente variare in più o in meno a seconda del suo contenuto in grasso. La quantità di alcool isopropilico da usare per l'estrazione varierà anche essa in proporzione.

pieghe e si evapora in capsula su bagno-maria fino all'eliminazione dell'alcool isopropilico. Il residuo si riprende con 10 ml di etere di petrolio che si travasano in imbuto separatore, quindi si lava la capsula con 10 ml di acqua che si aggiungono nell'imbuto separatore e di nuovo, alternativamente per due volte con 5 ml di etere di petrolio e 5 ml di acqua. Dopo agitazione si lasciano separare entro l'imbuto separatore le due fasi e si raccoglie quella acquosa. L'estratto acquoso si concentra in capsula su bagno-maria sino al volume di 2 ml che, in provetta, si trattano con 2 ml di soluzione satura di cloruro mercurico. La formazione del precipitato, dopo un'intorbidamento iniziale, è talvolta piuttosto lenta perchè la quantità di tensioattivo estratta è piccola, ma nel termine di due o tre ore si osserva chiaramente il precipitato raccolto su fondo della provetta. La conferma della natura del precipitato si effettua constatandone la solubilizzazione per aggiunta di cloruro sodico cristallizzato.

Si noti che spesso il precipitato ottenuto dai tensioattivi estratti dal pane è leggermente colorato in giallo paglierino, forse per effetto della cottura.

10) *Determinazione del maltosio* (1). — In un palloncino tarato da 200 ml si pongono 10 g di pane, seccato all'aria e finemente macinato e 100-150 ml di acqua a 40° C; il tutto si mantiene, agitando di tanto in tanto, in termostato a 40° C per mezz'ora; si aggiungono 5 ml di soluzione di ferrocianuro di potassio (contenente 15 g di sale cristallizzato in 100 ml), agitando e raffreddando prima di portare a volume e si filtra. Sul liquido così ottenuto si determinano gli zuccheri riduttori e si calcolano in maltosio, riferendoli a 100 parti di sostanza secca. Per questa determinazione di zuccheri si può ricorrere al metodo volumetrico di Fehling eseguito su 10 ml di soluzione di Fehling diluito con 40 ml di acqua in presenza di bleu di metilene.

Esame microscopico

Nel pane, a causa del processo di fermentazione e della cottura, la forma dei granuli di amido viene notevolmente modificata. I granuli infatti si rigonfiano e spesso si spaccano, mentre quelli poliedrici tendono ad assumere una forma tondeggiante. Pertanto l'esame deve essere condotto con molta cura, adoperando preferibilmente la mollica, scegliendo la parte più interna del pane. Tali parti di mollica si spappolano con acqua e si prepara il vetrino con una goccia del liquido. Per la identificazione dei granuli dei vari amidi vedi farina (esame microscopico).

(1) F. DI STEFANO & A. VERGILLO *Rass. Chim.*, 11, fasc. I (1959).

V - PASTE ALIMENTARI

Prelevamento dei campioni

I campioni, di circa g 300 ciascuno, devono essere costituiti interamente da pasta del medesimo formato, prelevata in modo corrispondente alla media della partita, per le paste in pacchi prelevare possibilmente un pacco originale.

I campioni debbono involgersi in carta resistente e vanno pesati al lordo con bilancia sensibile almeno al decigrammo. Per la chiusura dell'involucro dovrà escludersi la ceralacca. È bene che anche il Laboratorio, al quale è inviato il campione per l'analisi di prima istanza, appena questo è arrivato ne controlli il peso, segnandolo sull'etichetta, unitamente alla data di esecuzione della pesata. I campioni si potranno confezionare anche in barattoli di vetro con chiusura a molla e guarnizione di gomma.

Analisi.

Per le varie determinazioni il campione dovrà essere macinato finemente, in modo che passi attraverso un setaccio di almeno 400 maglie per centimetro quadrato, a meno che non venga altrimenti indicato.

A. — PASTE ORDINARIE.

1) *Esame organolettico.* — Si osservino: l'odore ed il sapore, che devono essere sempre gradevoli, non rancidi nè indicare presenza di muffe, il colore, l'aspetto esterno se uniforme o no; l'aspetto della frattura se vitreo o farinoso.

Nel caso in cui l'aspetto della pasta si presentasse eterogeneo, è opportuno separare meccanicamente le parti che apparissero diverse fra loro, osservandole poi singolarmente.

2) *Le determinazioni dell'umidità, delle ceneri, dell'azoto e della cellulosa* si eseguono come per la farina (II, 2, 3, 8, 9).

I valori si riferiscono a 100 parti di sostanza secca.

3) *Determinazione dell'acidità.* — 70/100 g di pasta si macinano finemente sino a passare completamente attraverso un setaccio con almeno

1.000 maglie per cm², ripetendo la macinazione di quanto rimane sul setaccio sino alla integrale riduzione a polvere fina di tutto il campione.

Su g 10 del campione così macinato si determina il contenuto di umidità, dato necessario per riferire a sostanza secca il valore dell'acidità.

4 g del campione polverizzato, esattamente pesati, si introducono in una beuta da 500 ml con tappo a smeriglio e si aggiungono ml 100 di alcool etilico al 50 % (controllato per misura della densità) esattamente neutralizzato, indicatore la fenolftaleina.

Si lascia in contatto per 3 ore, agitando blandamente di quando in quando, dopo di che si filtra per filtro Schleicher e Schull 589/2 e, quando tutto l'alcool è passato, se ne prelevano con pipetta ml 50 che si titolano con alcali N/50, dopo aggiunta di 3 gocce di soluzione alcolica di fenolftaleina all'1 %. La titolazione ha termine con la comparsa di una colorazione rosa leggerissima ma persistente.

Il valore dell'acidità si esprime in gradi: il grado di acidità corrisponde al numero di ml di alcali normale necessari a neutralizzare g 100 di sostanza secca. Il numero di ml di alcali N/50 usati per la titolazione dà direttamente, operando nel modo pescritto, il grado di acidità, che deve essere riferito a 100 parti di sostanza secca.

4) *Prova di cottura.* — Si introducono g 50 di pasta in ml 500 di acqua distillata all'ebollizione contenente g 2,5 di cloruro di sodio e si fa bollire per 15 minuti. Si osservano il tempo di cottura, l'aspetto della pasta dopo i 15 minuti di cottura, se o no rotta o spappolata, l'aspetto dell'acqua di cottura.

5) *Determinazione del maltosio.* — Si esegue, come per il pane (IV, 10) sulla pasta macinata finemente.

6) *Ricerca dei coloranti artificiali:*

a) *Ricerca dei coloranti acidi derivanti dal catrame* (1).

A ml 250 di acqua portati all'ebollizione in capsula di porcellana, si aggiungono ml 20 di alcool al 95 %, ml 2 di ammoniacca al 10 % e g 30 di pasta grossolanamente macinata. Quando si giudica che il liquido sia sufficientemente colorato in giallo, si aggiunge poca acqua fredda per far depositare la pasta, si decanta il liquido in altra capsula, si acidifica leggermente con acido cloridrico al 10 % (2), si aggiunge un filo di lana bianca sgrassata e si fa bollire per 10 minuti. In presenza di un colorante organico artificiale di natura acida, la lana resta colorata in giallo e la colorazione è più netta ed evidente dopo averla estratta dal bagno e lavata ripetutamente con acqua.

(1) G. POSSETTO, *Giorn. Farmacia e Chimica*, pag. 390 (1914).

(2) Per ottenere una colorazione gialla più brillante è preferibile in alcuni casi acidificare la soluzione con una punta di spatola di acido tartarico, anziché con acido cloridrico.

Poichè il saggio di Possetto non fornisce risultati molto chiari nei casi in cui la pasta sia stata colorata con miscele di coloranti, alcuni dei quali non fissabili su lana, è conveniente operare nel modo seguente :

20 g di pasta macinati molto finemente, in modo da passare per un setaccio di 1000 maglie per cm², si estraggono per otto ore in Soxhlet con benzolo. Si evapora completamente il benzolo e si tratta il residuo entro il palloncino con ml 10 di alcool etilico al 50 % per la durata di 10 minuti. Si filtra per un filtro a filtrazione lenta Schleicher e Schull N. 602 del diametro di cm 11 e si ripete il trattamento del residuo del palloncino per altre 4 volte, in modo da ottenere in tutto ml 50 di liquido alcoolico. Il filtrato si diluisce a ml 150 con acqua distillata, si acidifica con acido tartarico e, con le modalità già descritte, si opera il fissaggio su di un filo di lana sgrassata del colorante eventualmente presente.

b) *Ricerca dell'auramina* (1).

L'auramina viene ricercata nel seguente modo : g 50 di pasta, ridotta in piccoli pezzettini, vengono trattati in beuta da ml 250 con ml 100 di alcool etilico al 50 %. Si agita fortemente e si lascia in riposo per 10-12 ore agitando di tanto in tanto. In tal modo si ottiene il liquido alcoolico colorato in giallo mentre la pasta rimane di colore bianchissimo. L'estratto alcoolico si decanta attraverso un filtro in un becher da ml 100, si fa bollire rapidamente per circa 10 minuti per scacciare la maggior parte dell'alcool, e si lascia raffreddare il liquido ridotto a circa un terzo del suo volume iniziale. Durante il raffreddamento si deposita buona parte delle sostanze proteiche della pasta portate in soluzione dell'alcool. Se si giudica che il liquido non sia sufficientemente limpido per la fissazione su lana, lo si travasa in un tubo da centrifuga e si centrifuga a 3000 giri per circa un quarto d'ora. Durante la centrifugazione avviene ancora la separazione di altra sostanza leggermente colorata in giallo perchè trascina con sè un po' di colore. Si travasa in un becher il liquido quasi limpido, vi si immerge un filo di lana bianca sgrassata e si riscalda a 60-70° per 10 minuti, badando di non oltrepassare la temperatura di 70°. In tal modo, in presenza di auramina, la lana resta colorata in giallo più o meno carico secondo l'intensità della soluzione di partenza, ed il colore permane dopo conveniente lavaggio con acqua.

Per ulteriore conferma si può riportare il colore in soluzione facendo bollire la lana tinta per qualche minuto con acqua acidulata con acido acetico, ovvero si sottopone la lana medesima alle seguenti prove :

1) *Bagnata con acido cloridrico diluito si decolora lentamente ed il colore non ritorna neutralizzando.*

(1) F. DI STEFANO & G. ROSANOVA. *Ann. Chim. Appl.*, **27**, 571 (1937).

2) Bagnata con soluzione di idrato sodico al 10 %, si decolora ed il colore ritorna per aggiunta di acido acetico.

3) Sospesa in acqua in un tubo da saggio e trattata con idrato sodico si decolora. Si estrae la lana dal liquido, si lava con poca acqua che si aggiunge a quella contenuta nella provetta e si estrae il liquido con etere in imbuto separatore. Dopo aver separato lo strato acquoso si aggiunge acido acetico diluito: l'etere si colora in giallo; dibattendo con acqua leggermente acida per acido acetico, il colore passa nel liquido acquoso che resta colorato in giallo-verde. Questa soluzione, convenientemente concentrata, trattata con idrato sodico e polvere di zinco a caldo, si scolora riducendosi completamente; la soluzione incolore assume colorazione bleu per aggiunta di acido acetico glaciale.

c) *Ricerca della riboflavina.*

1) *Identificazione con tecnica di fluorescenza* ⁽¹⁾. — 10 g di pasta macinata finemente sino a passare per setaccio di circa 1000 maglie per cm² si spapolano in tubo da centrifuga con ml 30 di acqua distillata fredda e si centrifuga quindi per 15 minuti alla velocità di 4000 giri per minuto. Si decanta il liquido limpido in tubo da saggio, si aggiunge una goccia di fenoftaleina e si neutralizza con soluzione N/10 di idrato sodico. Osservando alla luce di Wood dopo qualche minuto il liquido, si nota una fluorescenza netta giallo-verde che indica la presenza di riboflavina aggiunta alla pasta.

Il saggio si può eseguire in confronto con una soluzione acquosa di riboflavina contenente mg 0,003 di riboflavina per ml che si prepara al momento dell'uso e che non deve essere neutralizzata.

2) *Identificazione per via cromatografica* ⁽²⁾. — 25 g di pasta macinata c.s. si pongono in una beuta ml 250, con tappo a smeriglio e si aggiungono ml 60 di acetone acquoso (80 : 20, V/V). Si lascia a contatto per 30 minuti, agitando di quando in quando, e si filtra per filtro a pieghe. Accertata alla luce di Wood la presenza di una fluorescenza dovuta probabilmente alla riboflavina, si concentra il filtrato su b.m. sin quasi a secco. Si riprende il residuo con ml 20 di acqua distillata e si filtra entro imbuto separatore. Si aggiungono ml 20 di etere etilico e si raccoglie in capsula l'estratto acquoso che si concentra su b.m. sino a ottenere poche gocce, con le quali si praticano le macchie di partenza per la cromatografia ascendente su carta da eseguire nelle seguenti condizioni: carta Whatman 1 (fogli da cm 12 × 12), solvente isobutanolo : piridina : acido acetico : acqua = 33 : 33 : 1 : 33, temperatura 20° C. Il cromatogramma sviluppato si osserva alla luce di Wood per deter-

(1) G. NEBBIA. *Boll. Lab. Chim. Provinciali*, **1**, 11 (1951).

(2) F. MUNTONI & M. G. DI CARLO-MALAGODI. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **25**, 563 (1962).

minare la posizione della macchia. Nelle condizioni indicate la riboflavina ha un R_f del valore di 0,65.

3) Nel caso di campioni vecchi (1), nei quali la riboflavina abbia subito la trasformazione in lumicromo si opera nel seguente modo :

10 g di pasta macinata si trattano con ml 20 d'acqua distillata e, dopo 5 minuti, si centrifugano a 4000 giri per 10 minuti. Il liquido limpido si decanta in una capsula del diametro di 3 cm e si irradia con lampada a vapori di mercurio da 15 Watt per un'ora. Nel caso di presenza di riboflavina si nota alla luce di Wood una fluorescenza azzurra.

d) *Ricerca del Giallo Somalia 2G (amminoazobenzolo) e del Giallo Somalia A (p-dimetilamminoazobenzolo).*

10 g di pasta finemente macinata si lasciano a riposo per 12 ore in cilindro a tappo smerigliato con ml 15 di etere etilico. Si decanta il liquido che si dibatte in un altro cilindro con ml 5 di acido cloridrico al 10 %. In presenza di Giallo Somalia 2G o Giallo Somalia A, lo strato acido assume una colorazione rosa.

e) *Ricerca del mais (2).*

Dato che il mais viene aggiunto ai semolini per confezionare paste alimentari di più intensa colorazione gialla, la ricerca del mais viene descritta in questo capitolo. Questa ricerca è basata sulla presenza della zeina.

6 g di pasta macinata finemente si introducono in una beuta da ml 100 e vi si aggiungono ml 20 di alcool etilico al 95 % in volume. La beuta si lascia quindi per un'ora in bagnomaria alla temperatura di 73°-75° C, avendo l'avvertenza di ricoprire la beuta con un vetrino da orologio. Alla fine dei 60 minuti, si toglie la beuta dal bagnomaria, e, dopo lieve agitazione, la si lascia a riposo per almeno un'ora, dopo di che si agita fortemente e si trasporta il contenuto della beuta su di un filtro a filtrazione lenta (Schleicher e Schull N. 602 duro) del diametro di cm 10.

Si prelevano e si pongono in un tubo da saggio ml 5 del filtrato limpido al quale si aggiungono ml 2 di idrato sodico N/1 e 0,4 ml di una soluzione al 5 % di solfato di rame cristallizzato.

Dopo aver agitato leggermente si pone il tubo da saggio per 15 minuti in bagno d'acqua a 73°-75° C, si raffredda e si aggiungono g 0,2 di carbone decolorante. Si agita bene il tubo da saggio e si filtra in altra provetta per filtro a pieghe del diametro di cm 7 a filtrazione rapida.

Dopo circa 30 minuti si ha un filtrato limpido più o meno intensamente colorato in violaceo, a seconda della quantità di mais presente.

(1) F. DI STEFANO & D. RENZI. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **19**, 294 (1956).

(2) D. ECCHER DALL'ECO. *Ann. Chim. Appl.*, **29**, 38 (1939).

f) *Ricerca cromatografica dei coloranti sintetici.*

1) (1) 10 g di pasta finemente macinata si introducono in una colonna di vetro del diametro di cm 3 e dell'altezza di cm 24, con piastra filtrante di vetro di porosità 2. Si versano quindi ml 25 di butanolo saturo d'acqua, si lascia sgocciolare completamente in una beuta, si versano altri 25 ml di butanolo, mescolando con bacchetta di vetro, si lascia sgocciolare completamente e si trasferisce l'estratto in una capsula per evaporarlo a piccolo volume su bagnomaria bollente. Si sottopone una pasta sicuramente genuina allo stesso trattamento e gli estratti concentrati si sottopongono a confronto cromatografico. Per la cromatografia si applica il metodo ascendente, adoperando carta Schleicher e Schull MGI 2043 B in fogli di cm 12×12 . Qualora si osservino per la pasta in esame macchie con R_f differenti da quelli della pasta genuina si può tentare anche un'identificazione del colorante nel modo seguente:

A diverse porzioni dell'estratto di pasta genuina si aggiungono piccole quantità dei coloranti che si intende confrontare. Si esegue la cromatografia nel modo descritto e si osserva quale di essi dia una macchia che abbia lo stesso R_f della pasta esaminata. Si esegue anche una *controprova* mescolando all'estratto della pasta in esame una piccola quantità del colorante che ha dato lo stesso R_f e si esegue un'altra cromatografia. Quando il colorante è lo stesso si deve ottenere una sola macchia, senza alcuna separazione.

Come solventi si adoperano le seguenti miscele:

butanolo - acido acetico - acqua = 4 : 1 : 5 (in volumi);

butanolo - etanolo - acqua = 4 : 1 : 5;

butanolo - etanolo - acqua = 2 : 1 : 1.

2) (2) g 10 di pasta finemente macinata si introducono in una beuta da 150 ml e si aggiungono ml 25 di alcool etilico al 50 %. Si agita sino a scomparsa dei grumi e, dopo un riposo di 10 minuti, si centrifuga a 5000 giri per 10 minuti. L'estratto alcolico così ottenuto si decanta in un piccolo becher e si acidifica con ml 0,5 di acido tartarico al 2 %; lo si fa quindi defluire lentamente attraverso una colonnina di vetro del diametro di cm 1, munita di rubinetto, nella quale sia stato precedentemente deposto uno strato di glutine secco macinato dell'altezza di circa 1 cm. Nel caso che il liquido defluisse troppo lentamente si può ricorrere a una blanda aspirazione.

Dopo che l'estratto è completamente defluito il colorante resta adsorbito nello strato superiore del glutine. Si eluisce allora con ammoniaca a 1,5 %, della quale sono sufficienti circa 10 gocce. Non appena l'eluato diviene colo-

(1) G. DE GIULI, F. MUNTONI & C. TURI-IACOBELLI, *L'Italia e i Cereali*, **13**, 461 (1958).

(2) F. MUNTONI & C. TASSI-MICCO, *Rend. Ist. Super. Sanità*, **25**, 567 (1962).

rato si raccoglie il liquido, che serve a praticare le macchie di partenza sulla carta da cromatografia.

La carta è la stessa indicata sotto f, 1), il solvente è una miscela di butanolo, etanolo e acqua nelle proporzioni di 2 : 1 : 1, la temperatura 20°C.

Il valori degli R_f dei coloranti più comunemente adoperati sono, nelle condizioni predette, i seguenti :

Azorubina	0,43
Rosso solido E	0,34
Amaranto	0,16
Rosso scarlatto Vittoria	0,19
Ponceau 6R	0,04
Scarlatto GN	0,53
Giallo tramonto FCF	0,36
Tartrazina	0,14
Giallo chinolina	0,25

È però opportuno praticare macchie di confronto con soluzioni dei coloranti puri.

g) *Determinazione dell'aggiunta di β -carotene.*

20 g di pasta macinata in modo che passi attraverso un setaccio di 400 maglie per cm^2 si pongono entro una beuta da ml 300 con tappo a smeriglio e si trattano con ml 50 di benzolo. Si lascia a contatto per 20 minuti, agitando spesso, e si filtra per filtro a pieghe. Sul filtrato si determina spettrofotometricamente l'estinzione alla lunghezza d'onda di 465 $\text{m}\mu$, in vaschette da 1 cm, e sia k' il valore determinato. Si prelevano quindi ml 25 del filtrato, misurati esattamente e si eluiscono su colonna di allumina per cromatografia Merck sec. Brockmann dell'altezza di cm 5 e del diametro di cm 1,5, preparata a secco. Prima dell'eluizione della soluzione carotenica si fanno passare per la colonna ml 30 di benzolo. L'eluato si raccoglie in un palloncino tarato da ml 50 e si continua l'eluizione sino a raggiungere il segno, aggiungendo ogni volta dopo lo sgocciolamento della soluzione carotenica, porzioni di benzolo di ml 5 ciascuna. Si determina quindi l'estinzione, adoperando vaschette di spessore conveniente a seconda della intensità di colorazione dell'eluato. Il valore dell'estinzione, raddoppiato per tenere conto della diluizione, si riporta allo spessore di 1 cm e si indica con k'' . Dal rapporto :

$$\frac{100 k''}{k'} = R$$

si ottiene la percentuale dei pigmenti espressi in β -carotene passati attraverso la colonna dell'estratto benzenico totale. Per le paste non colorate con carotene tale rapporto non deve essere superiore al valore di 15.

7) *Ricerca degli sfarinati di grano tenero.* — 30 g di pasta macinata (1) in modo che passi tutta attraverso un setaccio di 700 maglie/cm² si introducono in una beuta da 500 ml con tappo a smeriglio, si aggiungono 150 ml di acetone puro anidro, si agita per eliminare i grumi e si lascia a riposo per 24 ore a temperatura ambiente e al riparo della luce. Si agita la miscela e si filtra per filtro a pieghe, travasando la totalità del contenuto della beuta. Il filtrato si raccoglie in un pallone con tappo a smeriglio normalizzato da 200 ml e nel fondo del quale sia stata praticata una piccola cavità; si applica il pallone a un evaporatore rotante con tutti i giunti in vetro e si distilla a 45° C sotto un vuoto di 400 mm Hg. Se, allorchè l'evaporazione è pressochè terminata, si nota che la soluzione è leggermente torbida per la presenza di tracce d'acqua, si aggiunge acetone puro anidro in porzioni di 10 ml alla volta e si continua la distillazione sino a ottenere una soluzione limpida. Si completa l'eliminazione del solvente e si eliminano le ultime tracce di acetone tenendo il pallone per un'ora in stufa ad aria alla temperatura di 50°C.

Per mezzo di una pipetta capillare scaldata a 50° C si preleva l'estratto lipidico che si trasferisce in una beutina con tappo a smeriglio da 10 ml, preventivamente tarata e, per pesata, si determina la quantità di estratto; quindi si prepara una soluzione al 2 % con tetracloruro di carbonio per spettrofotometria I.R. La soluzione così ottenuta si inietta con una microsiringa in una cella a pareti in NaCl, dello spessore di 0,4 mm. Come riferimento si adopera una cella eguale, ma di spessore lievemente inferiore (0,39 mm) riempita del solvente.

Dopo aver esposto le celle per 10 minuti alla radiazione di operazione, si procede alla registrazione dello spettro I.R. Le condizioni di lavoro variano a seconda dello strumento adoperato, ma due debbono essere sempre le seguenti:

velocità di spostamento: 0,1 μ /min;

trasmittanza: 60 % a 10 μ .

Nello spettro registrato si notano due bande significative: A compresa fra 9 e 9,5 μ (1111 e 1052 cm⁻¹) e B compresa fra 8,2 e 8,9 μ (1219 e 1123 cm⁻¹). Per le paste di grano duro il massimo di assorbimento della banda A non dovrà essere situato al di là di 9,11 μ (1097,7 cm⁻¹), mentre per i prodotti di grano tenero esso si trova a 9,3 μ (1075 cm⁻¹). Nel caso di miscele il massimo si sposta proporzionalmente

Il rapporto B/A fra le aree delle due bande, determinato per mezzo di un planimetro polare, può esser utilizzato per determinare la quantità di sfari-

(1) M. BROGIONI & U. FRANCONI, *Boll. Lab. Chim. Provinciali*, **14**, 135 (1963) e **15**, 557 (1964)

nati di grano tenero presente in un prodotto di grano duro. Tale rapporto è inversamente proporzionale alla quantità di sfarinato di grano tenero.

È da notare che, mentre il massimo d'assorbimento della banda significativa (A) resta invariato, qualunque sia il tipo di registrazione dello spettro, il rapporto B/A varia a seconda del tipo di registrazione: lineare in micron o lineare in numeri d'onda. Sarà quindi opportuno procedere a una taratura dello strumento adoperato, utilizzando prodotti di natura certa.

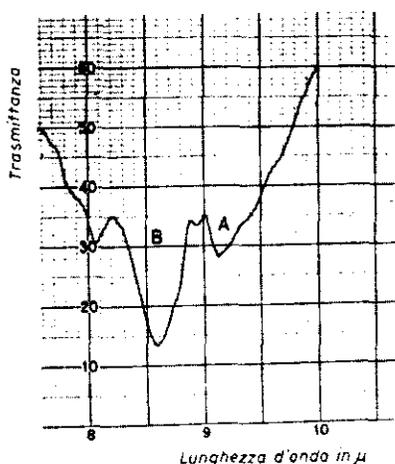


Fig. 1. — Spettro da pasta di sola semola.

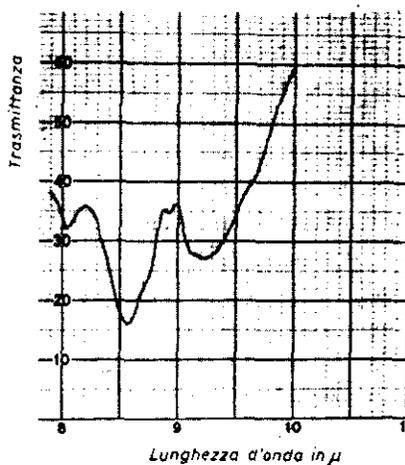


Fig. 2. — Spettro da pasta miscelata 50% semola e 50% granito.

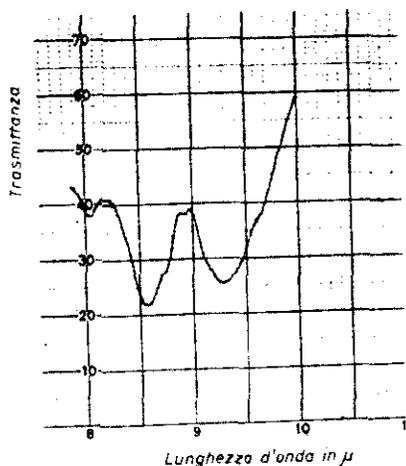


Fig. 3. — Spettro da pasta di solo granito.

Gli spettri riportati nelle Figg. 1, 2 e 3 sono stati registrati su carta lineare in micron.

8) *Ricerca dell'aggiunta di proteine animali (animal compound) per mezzo della sieroprecipitazione* ⁽¹⁾ :

a) *Preparazione del siero immune.* — A un coniglio maschio giovane, del peso di kg 2-3 si praticano per endovena 4 inoculazioni (le prime 3 da 1 ml, l'ultima da 2 ml) di siero di sangue dell'animale del quale si vogliono ricercare le proteine. 10 giorni dopo l'ultima inoculazione il coniglio si lascia a digiuno per 24 ore e si salassa in bianco, si ricava il siero e lo si depura dalle precipitine aspecifiche mediante saturazione con proteine eterologhe (siero) verso le quali il siero immune abbia dimostrato un potere precipitante secondario. Il precipitato che si forma si elimina per centrifugazione e il siero immune si tratta sino a che non dia più precipitazioni immediate.

b) *Preparazione dell'antigene dalle paste.* — 30 g di pasta macinata si agitano per 2 ore a 30° C con 60 ml di soluzione fisiologica e si lasciano riposare per 22 ore a 4° C. Si centrifuga per 30 minuti a 3000 giri e si filtra per Seitz sino a ottenere una soluzione limpida. Questa soluzione dovrà essere diluita 1 : 2 o 1 : 4 in modo che il siero immune possa stratificarsi sotto di essa.

c) *Esecuzione della siero-precipitazione.* — In una provetta sterilizzata del diametro di cm 0,5 si pongono ml 0,5 di antigene estratto dalla pasta. Per mezzo di una pipetta capillare si stratificano al disotto dell'antigene poche gocce del siero immune precipitante. All'interfase, in caso di specificità fra antigene e siero immune, si forma in pochi minuti un anello biancastro che resta sospeso fra i due liquidi. Le reazioni istantanee o tardive (dopo oltre 30 minuti) sono aspecifiche.

B. — PASTE ALL'UOVO:

1) *Dosaggio delle uova.*

a) *Metodo al digitonide* ⁽²⁾. — Si macina la pasta in modo che passi attraverso un setaccio di almeno 600 maglie per cm²; g 5 del macinato si pongono in una beuta da ml 300 e si aggiungono ml 20 di HCl dil. 1 : 1. Si lascia per 30 minuti su b.m. bollente, agitando di frequente. Si raffredda quindi sotto il rubinetto e, durante il raffreddamento, si aggiungono g 20 di KOH in pastiglie a poco per volta, in modo che il liquido non bolla emettendo spruzzi. Si raffredda del tutto e si aggiungono ml 20 di alcool etilico al 95 % lavando le pareti della beuta, che si tiene quindi per 45 minuti su b.m. bollente, applicando un refrigerante a ricadere e agitando spesso. Dopo 45 minuti si leva la beuta dal b.m., si aggiungono ml 25 di acqua fredda, si mescola bene e si raffredda. Dopo aggiunta di ml 50 di etere etilico si agita e si trasferisce in separatore da ml 500. Si lava la beuta con ml 25 di etere e una seconda volta

⁽¹⁾ V. MAZZARACCHIO, L. RAVAIOLI & E. GIOVENALI. *Zooproflassi*, **18**, 655 (1963); V. MAZZARACCHIO. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **1**, 540 (1938).

⁽²⁾ *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **37**, 92 (1954); **38**, 573 (1955).

con altri ml 10 di etere e quindi con ml 50 di KOH 1 %. Si fa ruotare il separatore per circa un minuto e quindi si lasciano separare le fasi. Lo strato inferiore si fa cadere in un altro separatore da ml 250 avendo cura di far passare solo liquido limpido e non eventuali particelle sospese o emulsioni. Lo strato eterico rimasto nel primo separatore si lava con ml 5 di HOK 1 %, che si raccolgono nel secondo separatore, nel quale si versano ml 25 di etere etilico e si agita per un minuto. Dopo conveniente riposo, lo strato inferiore si elimina e quello eterico si travasa nel separatore grande, lavando il separatore con ml 10 di etere. La soluzione eterica si lava per tre volte con ml 50 di KOH 1 %, trattenendo sempre nel separatore le particelle solide o l'emulsione, si lava per altre due volte con ml 50 di acqua distillata e l'etere si fa scolare quindi in una beuta da ml 300, lavando tre volte il separatore con ml 5 di etere. Si fa evaporare su b. m., si completa l'essiccamento tenendo la beuta per 30 minuti in stufa a 100°C e il residuo si scioglie in ml 5 di acetone. Si filtra quindi sotto vuoto attraverso filtro di vetro poroso (porosità 2 punti) lavando 3 volte con ml 5 di acetone (non si devono sorpassare i 20 ml di acetone in totale). Si aggiungono quindi mg 40 di digitonina sciolti al momento in ml 5 di alcool etilico all'80 % (scaldare leggermente a 50-40° per facilitare la soluzione). Si lascia riposare per 30 minuti agitando di quando in quando, si aggiungono quindi ml 50 di acqua distillata riscaldata a 60° C e si lascia raffreddare a temperatura ambiente. Si filtra per crogiolo di vetro a fondo poroso, seccato e pesato, (Jena 1 G 3) lavando parecchie volte la beuta con pochi ml di acetone. Il crogiolo si lava tre volte con ml 5 di acetone e due volte con ml 5 di etere, si essicca per 45 minuti in stufa a 100° C e, dopo raffreddamento in essiccatore, si ripesa. La differenza tra le due pesate dà la quantità di digitonide. Il peso del precipitato moltiplicato per 0,243 dà la quantità di steroli, che si riferisce a 100 parti di sostanza secca.

Tenendo presente che la quantità di steroli che si trova naturalmente negli sfarinati di frumento è in media pari al 0,050 % sul secco, dalla quantità di digitonide trovata si può risalire al numero delle uova impiegate applicando la Tab. 1.

TABELLA I.

Calcolo del numero di uova per kg di semola in base alla quantità di steroli.

Su 100 parti di sostanza secca		Numero di uova (*) per kg di semola
Digitonide	Steroli	
0,2057	0,050	0
0,3086	0,075	1
0,4115	0,100	2
0,5144	0,125	3
0,6173	0,150	4
0,7202	0,175	5

(*) Il numero delle uova è calcolato sulla base di uova dal peso medio di g 50.

b) *Dosaggio per via gascromatografica* (1). — 50 g di pasta macinata come in a) si mescolano con g 50 di solfato sodico anidro e si introducono in un ditale da estrazione. Dopo una notte di riposo entro essiccatore si estrae in Soxhlet con acetone per 12 ore. Si distilla il solvente e si essicca in stufa, a temperatura non superiore a 80° C, sino a eliminazione dell'acetone. Il residuo si tratta con ml 50 di potassa alcolica all'8% su b.m. bollente per 30 minuti. Si raffredda, si riprende con ml 60 di acqua distillata e si travasa in imbuto separatore. Si estrae l'insaponificabile con 4 porzioni successive di etere di petrolio (P.E. 40°-60°C) raccogliendo tutte le porzioni di etere di petrolio in un altro imbuto separatore ove l'estratto eterico si lava per 3 volte con ml 50 di alcool etilico al 50%. Si filtra quindi l'estratto eterico entro un pallone da distillazione e, dopo aver eliminato il solvente, si essicca in

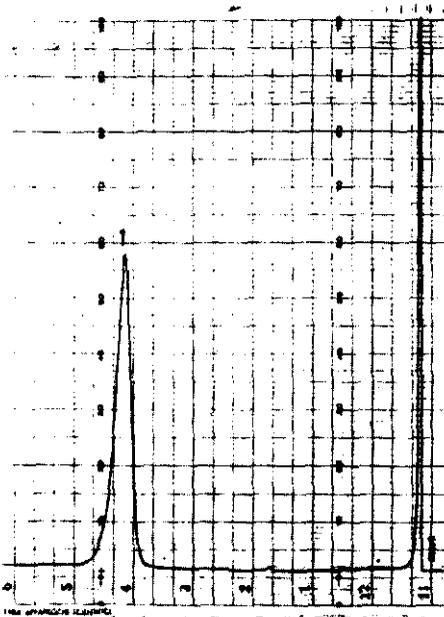


Fig. 4. — Colesterolo da uovo: gascromatogramma.

stufa a 80° C. Il residuo viene ripreso con cloroformio sino a completa solubilizzazione (meno di ml 2 sono di solito sufficienti) e la soluzione cloroformica si inietta nel gascromatografo.

Il gascromatografo deve essere equipaggiato con colonna di vetro da m 1,80, del diametro di cm 0,2, munita di un imboccamento frontale, pure in vetro, che permette l'iniezione diretta della soluzione cloroformica entro

(1) F. MUNTONI, E. TISCORNIA & C. TASSI-MICCO, *Rass. Dir. Tecnica Alimentaz.*, **1**, 29 (1966).

la colonna, allo scopo di evitare che gli steroli possano venire a contatto con parti metalliche, venendo a subire fenomeni di decomposizione. La colonna

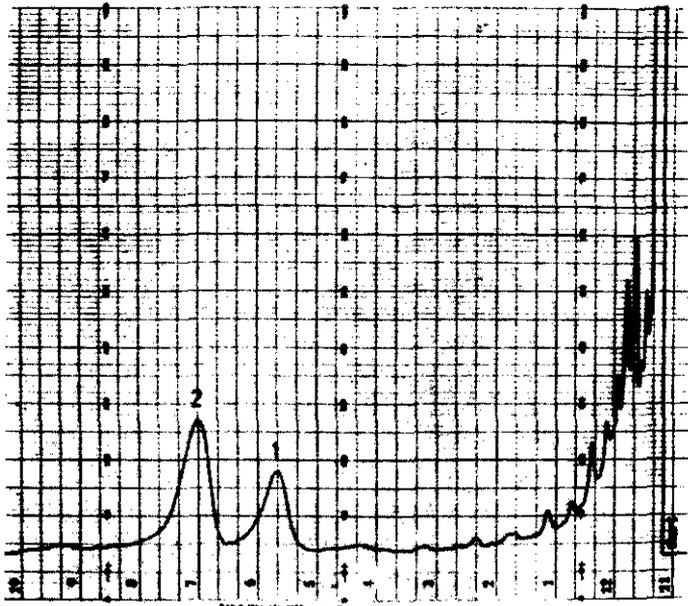


Fig. 5. — Steroli del frumento, gascromatogramma : 1) campesterolo, 2) β -sitosterolo.

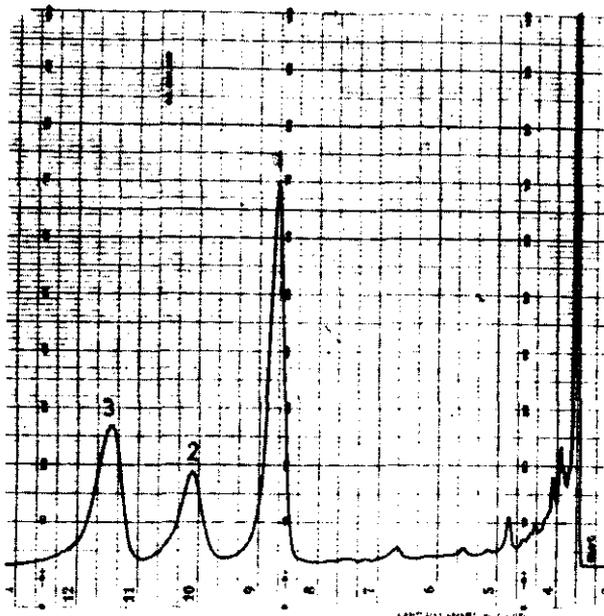


Fig. 6. — Gascromatogramma di pasta con 1 uovo per kg. : 1) colesterolo, 2) campesterolo, 3) β -sitosterolo.

si riempie con Gaschrom P 100/120 mesh, lavato e silanizzato con SE 30 a 1%. La temperatura della colonna è di 250°C e come gas di trasporto si

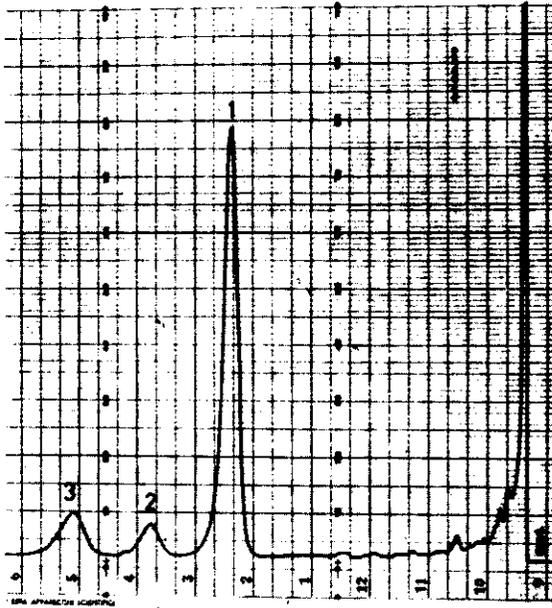


Fig. 7. — Gascromatogramma di pasta con 3 uova per kg: 1 colesterolo, 2 campesterolo, 3 β -sitosterolo.

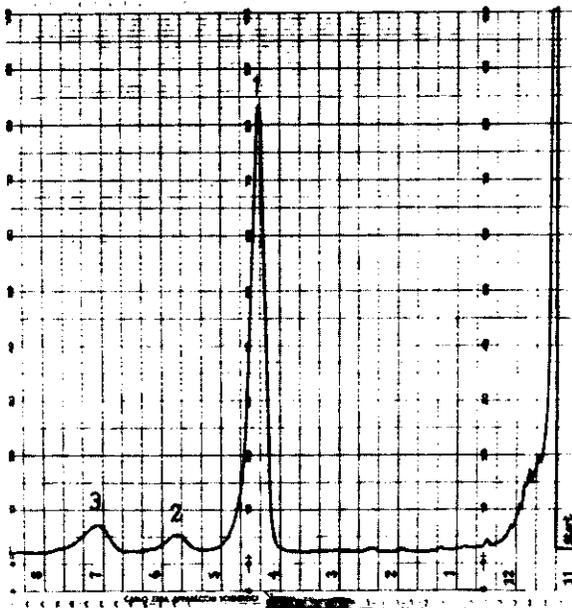


Fig. 8. — Gascromatogramma di pasta con 5 uova per kg: 1) colesterolo, 2) campesterolo, 3) β -sitosterolo.

usa elio alla velocità di efflusso di 20 ml/min. Soluzione iniettata: 0,2/0,3 microlitri.

I cromatogrammi dovranno essere ottenuti con perfetta separazione degli steroli utilizzati per la determinazione (colesterolo, campesterolo e β -sitosterolo) e avendo particolare cura che le basi dei picchi relativi vengano a trovarsi su di una stessa retta (Fig. 4-8). Ottenuto il cromatogramma, si misurano i rapporti fra colesterolo e campesterolo (A) e fra colesterolo e β -sitosterolo (B) che variano linearmente con il variare del numero di uova presenti nella pasta secondo la Tab. 2.

TABELLA 2.

Rapporti tra colesterolo e campesterolo (A) e tra colesterolo e β -sitosterolo (B) in funzione del numero di uova nella pasta

Numero di uova per kg di semola *	Equivalente in grammi di uova intere	R A P P O R T I	
		A	B
1	50	2,75	1,55
2	100	5,45	3,00
3	150	8,15	4,45
4	200	10,85	5,90
5	250	13,55	7,35

* Il numero delle uova è calcolato sulla base di uova dal peso medio di g 50.

2) *Ricerca dei coloranti artificiali.* — Due porzioni di 10 g di pasta macinata finemente si introducono in due grossi tubi da saggio con tappo a smeriglio; in uno di essi si aggiungono ml 15 di etere etilico, nell'altro ml 15 di alcool al 70 %; si agita fortemente e si lascia in riposo per 12 ore.

Se l'etere resta incolore o colorato debolmente, mentre l'alcool è nettamente colorato, è presente una sostanza colorante estranea, e ciò è confermato dal fatto che mentre il residuo solido che trovasi depositato al disotto dello strato di alcool è bianco, quello al disotto dello strato di etere, a causa della insolubilità della sostanza colorante, conserva il suo primitivo colore giallo.

Se tanto l'alcool che l'etere restano colorati, allora può essere presente o la sola luteina, materia colorante del giallo d'uovo, ovvero luteina accanto a poco colorante estraneo solubile in etere. In questo caso si eseguono le seguenti prove:

a) Una parte del soluto eterico viene trattata con soluzione acquosa di acido nitroso (reazione di Weyl): in presenza di luteina la soluzione si decolora. Se non si ha subito la decolorazione, può essere presente un colorante estraneo solubile in etere.

b) Si paragonano i colori dei residui che si trovano sotto gli strati liquidi : se quello dell'alcool è decolorato e quello dell'etere no, allora accanto alla luteina vi è qualche colorante estraneo che può identificarsi nel modo seguente :

g 20-30 di pasta vengono dibattuti con ml 40-50 di etere etilico, si lascia depositare, si decanta l'etere, se ne aggiunge dell'altro ripetendo l'operazione finchè l'etere rimane incolore : in tal modo la luteina viene allontanata completamente. Il residuo viene poi utilizzato per la ricerca delle sostanze coloranti artificiali, come indicato per le paste ordinarie (V, A, 6).

3) *Determinazione dell'aggiunta di β -carotene.* — Si esegue nello stesso modo indicato per le paste ordinarie (V, A, 6).

C. — PASTE CON RIPIENO (tortellini, agnolotti e simili).

1) *Determinazione delle uova negli involucri di pasta.* — Dopo avere accuratamente separato il ripieno dall'involucro, su aliquote di quest'ultimo si procede come indicato per le paste all'uovo (V, B, 1).

2) *Ricerca dell'acido sorbico nel ripieno* (1). — 15 g di ripieno, liberato dalla pasta, si sminuzzano in un mortaio e si trasferiscono in un palloncino per distillazione in corrente di vapore aggiungendo 60 ml di acqua distillata e 1 ml di acido fosforico all'80 %. Si distilla in corrente di vapore sino a raccogliere in un provettone 50 ml di distillato che, dopo avere aggiustato il pH al valore di 8 con NaOH N/10, si trattano con 2,5 ml di KMnO_4 N/10. Si tappa il provettone con un disco di carta da filtro, al centro del quale si deposita una goccia di reattivo di Simon (da preparare al momento aggiungendo 3 gocce di dietanolammina a 5 ml di nitroprussiato sodico al 5 % in acqua). Si pone quindi il provettone in b.m. bollente per 10 minuti : entro questo termine, in caso di presenza di acido sorbico, la macchia di reattivo di Simon si colora, più o meno intensamente, in bleu.

3) *Dosaggio dell'acido sorbico nel ripieno.* — 15 g di ripieno, trattati come indicato in V, C, 2, si distillano in corrente di vapore sino a raccogliere 50 ml di distillato. Si porta al volume di 1 litro con acqua distillata e si legge, contro acqua distillata allo spettrofotometro nell'U.V. alla lunghezza d'onda di 225 m μ .

Nelle condizioni indicate l'assorbimento specifico $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ dell'acido sorbico ha il valore di 2300.

(1) A. CESARI, C. JACOBELLI-TURI e M. G. MALAGODI. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **24**, 657 (1961).

VI - FARINE ED ESTRATTI DI MALTO

Prelevamento dei campioni

I campioni di farina e di estratto di malto si prelevano possibilmente in barattoli originali, oppure in modo da avere un campione medio dell'intera massa, che va posto in recipienti di vetro a tappo smerigliato. Ogni campione, sia di farina che di estratto di malto, non deve essere inferiore a g 200.

Analisi.

1) *Determinazione dell'umidità.* — Per la farina di malto la determinazione si esegue come per le farine da panificazione (II, 2).

Per gli estratti di malto, si pesano g 4-5 di sostanza in capsula piatta, di platino o di porcellana, tarata insieme a una bacchetta di vetro ed a circa g 30 di quarzo in granelli, lavato e calcinato. Si aggiunge poca acqua, quanto è sufficiente per impastare bene con il quarzo, si mescola con la bacchetta, si evapora a secco su b.m., si pone in stufa a 105° C fino a peso costante. Dalla diminuzione di peso si calcola la percentuale di acqua contenuta nell'estratto.

2) *Determinazione delle ceneri.* — 5-10 g di sostanza si seccano in capsula tarata di platino o di porcellana, si carbonizzano a fiamma diretta, si inceneriscono in muffola e si pesano, seguendo le norme già date per la farina.

Nel caso degli estratti si abbia cura di eseguire la carbonizzazione con microfiamma e molto lentamente per evitare rapidi rigonfiamenti e perdite del prodotto.

3) *Determinazione degli zuccheri riducenti.* — Di solito si determinano complessivamente, esprimendoli in maltosio.

La soluzione si prepara in pallone da un litro agitando con acqua g 10 di farina o g 20 di estratto, chiarificando, se necessario, con acetato basico di piombo, quindi con soluzione satura di solfato sodico e portando a volume con acqua. Nel filtrato si effettua la determinazione con il liquido di Fehling seguendo il metodo ponderale o volumetrico, o meglio, iodometricamente.

Per applicare il metodo iodometrico, in un matraccio di ml 250-300, si uniscono ml 25 di ciascuna delle due soluzioni del liquido di Fehling e ml

25 della soluzione in esame, la quale non deve contenere più dell'1 % di maltosio. Si mantiene in ebollizione per 4 minuti, raffreddando poi rapidamente. Il liquido viene decantato su filtro di Gooch e di porcellana a fondo poroso, evitando di portarvi l'ossidulo di rame, che si lava per decantazione con circa ml 20 di acqua.

Si aggiungono nel matraccio circa ml 10 di acido nitrico al 30 %, agevolando la dissoluzione dell'ossidulo di rame con leggero riscaldamento; si versa questa soluzione sul filtro per disciogliere l'ossidulo eventualmente trasportato. Si lavano un paio di volte il filtro ed il matraccio usando complessivamente circa ml 40 di acqua; si alcalinizza leggermente la soluzione con ammoniaca e, per mezzo di corrente di aria, si asportano i vapori sovrastanti. Dopo avere neutralizzato l'eccesso di ammoniaca con acido solforico, si aggiungono ml 10 dello stesso acido al 20 %, g 4 di urea e si agita energicamente fino a completa scomparsa di effervescenza; infine si aggiungono g 3 di ioduro di potassio e, dopo agitazione, si titola lo iodio liberatosi con tiosolfato sodico N/10. Moltiplicando il numero di centimetri cubici di tiosolfato adoperati per 6,36 si ha il peso del rame in mg e da questo, con le tabelle di Wein, si risale alla quantità di maltosio presente.

4) *Determinazione del potere diastatico (Pollak)*. — Per potere diastatico s'intende la quantità in grammi di maltosio prodotta da g 1000 di farina o di estratto di malto, in 30 minuti primi, per saccarificazione di una soluzione di amido.

La procedura è la seguente (1):

a) *reattivi*:

— Soluzione tampone fosfatica M/15: si ottiene aggiungendo a ml 95 di soluzione M/15 di fosfato monopotassico (g 9,078 di KH_2PO_4 per litro) ml 5 di soluzione M/15 di fosfato bisodico (g 11,876 di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ per litro).

— Soluzione di acetato basico di piombo al 10 %.

— Soluzione satura di Na_2SO_4 .

— Liquido di Fehling:

A) g 69,278 di $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ per litro.

B) si sciolgono in acqua distillata g 346 di sale di Seignette (tartrato sodico potassico) e g 100 di NaOH e si porta a 1 litro.

— Salda d'amido: g 7,5 di amido d'arrow-root si spapolano in un mortaio con ml 25 di soluzione tampone, si diluisce con acqua distillata riscaldata a 45° C e si porta in un pallone tarato da ml 300, impiegando in totale

(1) F. MUNTONI, *Birra e Malto*, 5, fasc. 5, 22 (1958).

non più di ml 250 di liquido (25 di soluzione tampone e circa 225 d'acqua). Si immerge il pallone in un bagno-maria bollente e si agita sino a formazione della salda, dopo di che si lascia ancora per 30 minuti su bagnomaria bollente, agitando di frequente, e quindi si raffredda a 40° C.

— Soluzione di KOH al 10 %.

b) *Preparazione della soluzione di estratto di malto.* — g 2 di estratto si sciolgono entro un piccolo becher in ml 10 di soluzione tampone e si trasporta quantitativamente il tutto in un palloncino tarato da ml 100 lavando e portando a segno con acqua distillata.

c) *Determinazione del potere saccarificante.* — Il pallone da ml 300 contenente la salda di amido a 40°C si immerge in un bagno-maria termostato a 40° C e si controlla la temperatura della salda tenendo un termometro immerso nel pallone. Si introducono quindi ml 10 della soluzione di estratto di malto e si fa scattare il cronometro. Si agita di frequente il pallone tenendolo sempre immerso nel bagno-maria e controllando costantemente la temperatura. Allo scadere di 30 minuti esatti si versano nel pallone ml 3 di soluzione di idrato potassico al 10 %, si toglie il pallone dal bagno-maria, si raffredda e si porta a segno con acqua distillata.

Sulla soluzione di salda saccarificata secondo c) si esegue la determinazione degli zuccheri riducenti adoperando il liquido di Fehling (ml 5 di ciascuna delle soluzioni A e B ai quali si aggiungono ml 40 di acqua distillata). La determinazione si può effettuare sia per titolazione diretta — indicatore la soluzione di blu di metilene all'1 % — sia iodometricamente, avendo sempre cura di applicare le modalità prescritte per il maltosio e i risultati si esprimono appunto in maltosio.

d) *Determinazione degli zuccheri pre-esistenti.* — Si pesa in un piccolo becher 1 grammo di estratto di malto che si scioglie con acqua distillata e si travasa quantitativamente in un palloncino tarato da ml 100, si aggiungono ml 5 di acetato basico di piombo e, dopo circa 10 min, ml 10 di soluzione satura di solfato sodico. Si lascia riposare per 15 minuti e si porta a segno con acqua distillata. Si filtra e sul filtrato si determinano gli zuccheri riducenti, operando nelle condizioni prescritte per il maltosio ed esprimendoli in tale forma.

e) *Calcolo.* — La formula generale per calcolare il potere diastasio, supponendo di aver dosato gli zuccheri per titolazione diretta col liquido di Fehling, è la seguente :

$$PD = \frac{M V}{R Q} \cdot 1000 - 10 Z$$

in cui PD = potere diastasio; M = quantità di maltosio (in grammi) che riduce ml 10 di liquido di Fehling diluito 1 : 4, V = volume totale della salda

d'amido saccarificata; R = numero dei ml di salda saccarificata che riducono 10 ml di liquido di Fehling diluito 1 : 4; Q = grammi di estratto di malto adoperati per saccarificare la salda; Z = percentuale di zuccheri riducenti preesistenti, espressi in maltosio.

Nel caso delle condizioni di operazione sopradescritte la formula sarà:

$$PD = \frac{0,0741.300.1000}{0,2.R} - 10 Z$$

che, essendo M, V e Q delle costanti, si può semplificare in

$$PD = \frac{111150}{R} - 10 Z$$

Esempio pratico: se supponiamo di aver impiegato ml 20,4 di salda saccarificata per ridurre ml 10 di liquido di Fehling diluito 1 : 4 e che il contenuto in zuccheri riducenti preesistenti, espresso in maltosio, sia di 64,54 per cento, avremo:

$$PD = \frac{111150}{20,4} - 645,4 = 5465,4 - 645,4 = 4820 \text{ U. P.}$$

Si tenga presente che il coefficiente 1000 si introduce nel calcolo perchè il potere diastatico si esprime in unità Pollak per un kg (g 1000) di prodotto.

Le farine provenienti da cereali maltati devono avere un potere diastatico non inferiore a 6500 unità, calcolato su sostanza secca, gli estratti di malto un potere diastatico non inferiore a 4500 unità, sulla sostanza tal quale.

5) *Determinazione del rapporto maltosio : glucosio* ⁽¹⁾. — 10 g di estratto di malto, pesati entro un becher da ml 250, vengono sciolti con ml 5 di acqua bollente. Dopo raffreddamento si aggiungono ml 130 di etanolo a 95° precipitando tutte le destrine. Dopo 24 h di riposo si decanta in beuta la soluzione alcoolica e il precipitato, sciolto nuovamente con ml 5 di acqua bollente c.s., viene riprecipitato con ml 130 di etanolo al 95 %. Dopo altre 24 h di riposo si decanta la soluzione alcoolica, aggiungendola a quella della prima estrazione. Il complesso degli estratti alcoolici si distilla quindi sotto vuoto (press. 200 mm Hg) a 65°/70° C sino a eliminazione dell'alcool. Il residuo si trasporta quantitativamente in palloncino tarato da ml 100, si defeca con ml 5 di acetato basico di piombo al 10 %, si aggiungono dopo 15 min. ml 10 di soluzione satura di solfato sodico, si porta a segno con acqua distillata e, dopo un'ora, si filtra. Sul filtrato si esegue la lettura polarimetrica in tubo da mm 200.

(1) F. MUNTONI & A. CESARI. *Birra e Malto*, 5, fasc. 12, 20 (1958).

20 ml del filtrato si portano in palloncino tarato da ml 100, si porta a segno con acqua distillata e si determina il potere riducente con il liquido di Fehling diluito 1 : 4, usando per ogni determinazione ml 10 di liquido di Fehling diluito con ml 40 di acqua distillata bollita.

Le formule per il calcolo delle percentuali di maltosio e glucosio in base al potere rotatorio e a quello riducente determinati nelle condizioni descritte sono le seguenti :

$$A = \text{maltosio } \% = \frac{202,2 P - (1,056 \cdot \frac{5.000}{R})}{416,34} \cdot 10 = \frac{202,2 P - \frac{5.280}{R}}{41,634}$$

$$B = \text{glucosio } \% = \frac{(2,764 \cdot \frac{5.000}{R}) - 135 P}{416,34} \cdot 10 = \frac{\frac{13.820}{R} - 135 P}{41,634}$$

in cui :

202,2 = ml Fehling dil. 1 : 4 ridotti da 1 g di glucosio

135 = ml Fehling dil. 1 : 4 ridotti da 1 g di maltosio

1,056 = gradi cerchio deviati da 1 g di glucosio in ml 100, in tubo da mm 200

2,764 = gradi cerchio deviati da 1 g di maltosio in ml 100 in tubo da mm 200

P = polarizzazione determinata

R = ml della soluzione zuccherina che riducono ml 10 di liquido di Fehling dil. 1 : 4.

Negli estratti di malto genuini il rapporto maltosio : glucosio $\left(\frac{A}{B}\right)$ non deve essere inferiore al valore di 3,20.

VII - LIEVITI

Prelevamento dei campioni

Presso le fabbriche ed i depositi si prelevino pacchetti originali, presso i fornai si possono prelevare campioni uniformi dai pacchetti pronti all'uso.

Tali campioni, ciascuno di peso non inferiore a g 100, devono essere avvolti in carta pergamena e conservati in ambiente fresco e riparati dalla luce. Quando le fabbriche o i depositi sono a grande distanza dal laboratorio, è bene prelevare il campione dal frigorifero dello stabilimento e trasportarlo entro un termos.

L'analisi deve essere eseguita al più presto possibile.

Analisi.

1) *Esame organolettico.* — Si osservino il colore, l'aspetto (omogeneità, stato di conservazione, ecc.), l'odore ed il sapore del prodotto sospeso in acqua.

2) *Determinazione dell'umidità.* — Si seccano g 5-10 di lievito finemente suddiviso, prima in essiccatore a vuoto od in stufa a 50°-60° C per 3-4 ore, poi a 105° C fino a peso costante. Dalla perdita di peso si calcola la percentuale di umidità.

3) *Determinazione delle ceneri.* — 10 g di lievito, esattamente pesati in capsula di platino o di porcellana, si carbonizzano e quindi si inceneriscono seguendo le norme già date per le farine.

4) *Determinazione dell'acidità.* — Si spapolano bene in bicchiere g 10 di lievito con ml 100 di acqua e si titola con soluzione di idrato sodico N/10 (indicatore fenoltaleina). L'acidità si esprime in centimetri cubici di alcali normale per 100 grammi di lievito.

Esame microscopico

Si sospende un po' del lievito nell'acqua, si aggiunge qualche goccia di soluzione acquosa all'1 % di violetto metile e si osserva il preparato al microscopio con ingrandimento di circa 300 diametri. Le cellule morte assorbono

rapidamente ed intensamente il colore, mentre quelle vive, anche dopo prolungato contatto, con lo assorbono affatto o molto debolmente ed in modo parziale.

Ricerca dell'amido. — I granuli di amido si riconoscono con l'esame microscopico, aggiungendo al preparato qualche goccia di una soluzione iodoiodurata molto diluita (Tav. I, II, III).

Requisiti dei lieviti

Il lievito deve essere costituito da una massa omogenea, semisecca, di colore giallo grigiastro, di consistenza pastosa o grumosa, non vischioso al tatto. L'odore deve essere caratteristico e ricordare quello dei prodotti di fermentazione.

Non deve essere putrefatto o comunque alterato.

Al microscopio non devono riscontrarsi che cellule di lievito in massima parte viventi, i batteri e le cellule morte devono essere presenti solo in piccola quantità. Non deve contenere amido.

L'umidità non deve superare il 75 %.

Le ceneri e l'acidità non devono essere superiori rispettivamente a 2,5 e 5 %, riferite alla sostanza tal quale.

VIII - CONDIMENTI PER PANIFICAZIONE

Prelevamento dei campioni

Da recipienti originali si prelevino circa 800 g di prodotto che, divisi in 4 parti, verranno posti entro altrettanti barattoli di vetro con tappo a guarnizione di gomma e chiusura a molla.

Analisi.

1) *Determinazione dell'acqua.* — 10 g circa si pesano esattamente in capsula piatta di porcellana o di platino, tarata insieme a una bacchetta di vetro e a g 30 circa di quarzo in granelli lavato e calcinato. Si impasta bene il condimento con il quarzo, si evapora a secco su b. m. e si pone in stufa a 105° C sino a peso costante. Dalla diminuzione di peso si calcola la percentuale di acqua.

2) *Determinazione del grasso e dello zucchero* (1). — 3 g di prodotto emulsionato si pesano esattamente entro un becher da ml 100 e si fanno fondere su bagno maria. Non appena la massa è fusa si aggiungono ml 40 di esano normale, si mescola bene con bacchetta di vetro e si versano quindi g 12 di solfato sodico anidro ben polverizzato. Si agita bene con una bacchetta e, ricoperto il becher con un vetrino da orologio, si lascia riposare per 3 ore, mescolando di quando in quando e rompendo i grumi di solfato sodico idrato che si vengono a formare.

Trascorse le 3 ore si filtra il liquido, che è divenuto perfettamente limpido, decantandolo su di un filtro a setto poroso (Jena 1 G 3 o equivalente) sopra il quale sia stato posto un disco di carta da filtro dura ricoperto da uno strato di 4 o 5 mm di solfato sodico anidro.

Il filtro entra, attraverso un tappo di gomma a due fori, in una beuta da ml 250 che sia stata previamente tarata dopo essiccamento in stufa a 100° C, mentre si pratica una lieve aspirazione attraverso un tubo a squadra che entra nella beuta attraverso il secondo foro del tappo.

(1) F. MENTONI & A. CESARI. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **20**, 979 (1957).

Il residuo rimasto nel becher si lava 4 volte con porzioni di ml 10 di esano e nel corso dei lavaggi si porta tutto il solfato sodico entro il filtro. Si lava il becher con esano e si completa il lavaggio del solfato sodico sul filtro. Per il lavaggio completo non si impiegano più di ml 80 di esano.

L'esano vien quindi distillato su bagno maria e, terminata la distillazione, la beuta si secca per un'ora in stufa a 90°C/100°C, si raffredda in essiccatore e si ripesa. La differenza tra le due pesate dà la quantità di grasso presente in g 3 di prodotto, che si traduce in percentuale.

Il residuo rimasto sul filtro e che contiene anche lo zucchero, insolubile in esano, si porta, insieme al disco di carta da filtro. Entro un becher da ml 100. Le poche particelle rimaste aderenti alle pareti del filtro si trasportano nello stesso becher spruzzettando con alcool etilico di 80°. Anche il setto poroso si lava con alcool di 80° e il liquido di lavaggio si versa nel becher. Per il lavaggio del setto poroso non occorrono più di ml 10 di alcool. Altri ml 40 di alcool all'80 % si versano entro il becher e si mescola energicamente con bacchetta di vetro, sminuzzando tutti i grumi di solfato sodico.

Dopo un riposo di 10 min si filtra per carta, decantando, entro un palloncino tarato da ml 100. Si continua a trattare il solfato con porzioni di ml 10 di alcool e a filtrare, sino portare a segno il palloncino tarato.

Una volta accertato, a mezzo di un saggio col liquido di Fehling, che lo zucchero presente sia saccarosio, si esegue la misura polarimetrica in tubo da mm 200.

Dato che la rotazione specifica del saccarosio è di + 66°,5 e che quindi una sua soluzione all'1 % devia la luce polarizzata di + 1°,33, poichè sono impiegati per la determinazione g 3 di prodotto emulsionato e lo zucchero in essi contenuto è stato disciolto in ml 100 di liquido, la formula per stabilire la percentuale di zucchero presente nel prodotto è:

$$Z = \frac{100 A}{3 \times 1,33} = \frac{100 A}{3,99}$$

dove Z è la percentuale di zucchero (saccarosio) e A la lettura polarimetrica in tubo da mm 200.

3) *Ricerca dei tensioattivi poliossietilenici.* — Uno o due grammi di prodotto si sciolgono entro un becher con ml 15 di etere di petrolio e quindi la soluzione (1) si travasa in imbuto separatore. Si aggiungono ml 20 di acqua, si agita e si lasciano separare le due fasi. Si separa quindi la fase acquosa,

(1) Si tenga presente che se nel grasso emulsionato vi fosse anche zucchero, come spesso avviene per i prodotti del commercio, non si avrà una soluzione, ma una sospensione perchè lo zucchero non è solubile in etere di petrolio.

raccogliendola in capsula, previa filtrazione se esso non fosse limpido, e la si concentra su bagno-maria sino a che sia ridotto a 2-3 ml. Questo residuo si travasa in provetta e si aggiunge un egual volume di soluzione satura di cloruro mercurico. Si avrà quasi immediata la formazione di un precipitato bianco, la cui natura si controlla constatando se esso si solubilizzi per aggiunta di cloruro sodico cristallizzato.

Il coefficiente di ripartizione acqua: etere di petrolio dei tensioattivi polioossietilenici consente di effettuarne la ricerca nel modo descritto perchè anche nei casi meno favorevoli la quantità di tensioattivo che passa nell'acqua è sempre più che sufficiente a reagire con il cloruro mercurico, mentre nei casi più favorevoli si avrà un precipitato abbondantissimo.



Amido di frumento.



Amido di segale.



Amido d'orzo.



Amido di mais.



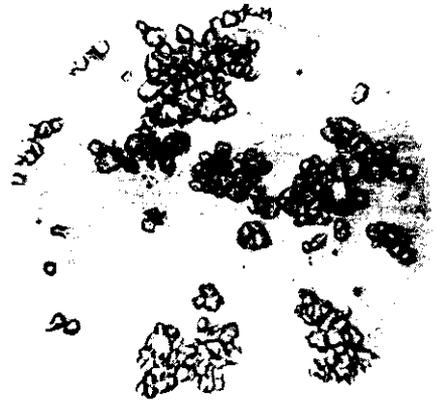
Amido di mais.



Amido di riso.



Amido di riso.



Amido di avena.



Amido di fava.



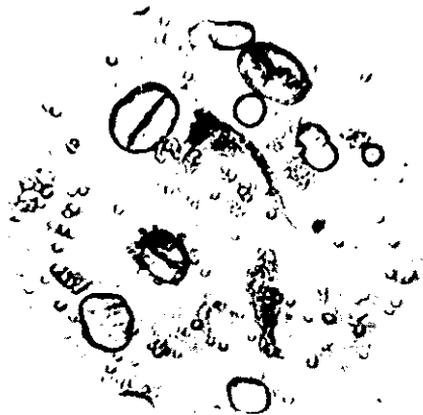
Amido di fagioli.



Amido di ceci.



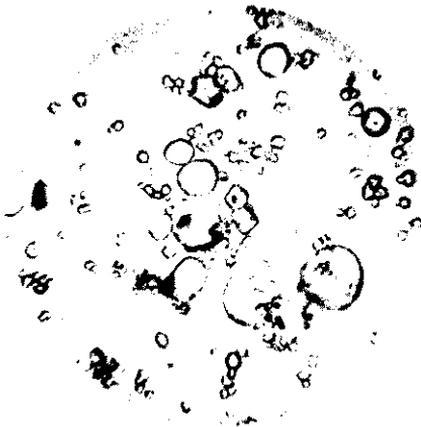
Amido di piselli.



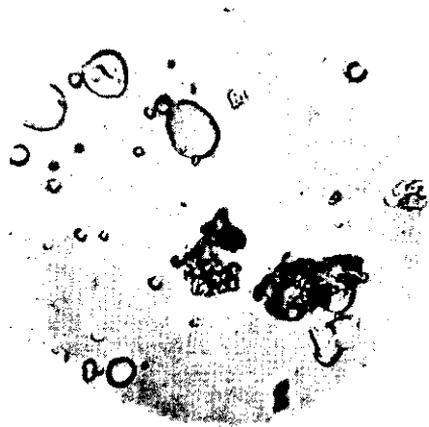
Amido di veccia.



Amido di patata.



Miscela di frumento e mais.



Miscela di frumento e riso.



Miscela di frumento e orzo.



Miscela di frumento e fave.