

**38. S. ANSELMI e Adriana CESARI. — Analisi del latte in polvere.
Determinazione del contenuto in grasso.**

Questa determinazione, che è stata ed è tutt'ora oggetto di studio da parte di molti sperimentatori, presenta delle difficoltà che rendono la sua esecuzione necessaria di accorgimenti per evitare giudizi errati e lontani dalla realtà. E' stato infatti dimostrato che il metodo generale per estrazione diretta, così come viene generalmente praticato, non può, in molti casi, essere applicato, perchè la maggiore parte dei campioni di latte in polvere, con tale procedimento, risultano contenere una quantità di grasso di gran lunga inferiore a quella realmente contenuta. Le indagini eseguite dai vari autori, che si occuparono dell'argomento per stabilire le cause di un comportamento così anormale, portarono ad ammettere che durante il processo industriale di essiccamento, specialmente in quello a « spruzzo », le varie sostanze non grasse contenute nel latte formino, attorno alle goccioline di grasso, degli involucri tanto compatti da non permettere al solvente impiegato di venire a contatto con esse e, di conseguenza, di portarle in soluzione. Poichè nel procedimento industriale non si ottiene una polvere del tutto uniforme, avviene che una parte del grasso rimane fuori da questi involucri ed è così facilmente estraibile dal solvente. Con questa ammissione viene spiegato il perchè polveri preparate con latte ad alte percentuali di grasso, sottoposte all'azione di solventi, come l'etere etilico, l'etere di petrolio, il solfuro di carbonio od altro, risultano contenerne una bassissima percentuale. Così, per poter giungere a dati che potessero rispecchiare il vero contenuto in grasso, si sono proposti metodi di dosaggio in cui si esclude l'uso dei solventi, oppure questi vengono impiegati dopo aver disgregato la sostanza. Alcuni di essi sono già usati nella pratica analitica per il dosaggio del grasso in alcuni prodotti, specialmente in quelli caseari. Tra i più indicati sono quelli di Gerber, eseguito in diversi modi, Gerber-Teichert, Gottlieb, Röse-Gottlieb, Schmid-Bondzynski ed altri. Dettagli e modalità di esecuzione di ciascun metodo sono riportati dalla letteratura al riguardo, dove pure vengono discussi i risultati che si ottengono e messe in evidenza le ragioni di preferenza per l'uno o per l'altro.

Pertanto Ch. Porcher ⁽¹⁾ constata che il metodo diretto di estrazione con solventi, usando etere etilico, dà risultati minori di circa il 2% di quello di Röse-Gottlieb e le sue esperienze si accordano con quelle di Siegfeld e di Teichert, i quali, a loro volta, con lo stesso solvente trovano delle differenze maggiori e rispettivamente del 3,8-3,9% e del 2,09-2,39% in meno rispetto allo stesso metodo. Mentre Siegfeld diminuisce le differenze trovate risottoponendo all'azione del solvente, previo essiccamento e diluizione con sabbia, il residuo ottenuto dall'estrazione, Teichert afferma che protraendo anche per 40 ore consecutive l'estrazione non si riesce ad ottenere la quantità di grasso effettivamente presente nel prodotto. D'altro canto Porcher, dimostra che l'estrazione con etere è rapida ed infatti in solo due ore ottiene il 99% circa della quantità ottenuta dopo 6-8 ore, però è del parere che, dovendo applicare questo metodo, l'operazione debba durare otto ore. Analoga osservazione viene fatta da H. Jephcott ⁽²⁾, il quale in una sola ora di estrazione ottiene l'87,5% della quantità trovata con il metodo di Werner-Schmidt, l'88,5% di quanto ottiene con il metodo di Gottlieb-Röse, ed il 92,60% della quantità estratta con etere in 21 ore, la cui cifra, però, viene raggiunta dopo 9 ore. Anche egli raccomanda che l'estrazione sia protratta per 8-9 ore.

Porcher attribuisce queste discordanze fra i risultati all'incapsulamento delle particelle di grasso da parte delle altre sostanze contenute nel latte e consiglia di eseguire la determinazione con metodi che mettano in libertà il grasso oppure sul prodotto sciolto in acqua. Afferma inoltre che il sistema di ottenimento delle polveri non ha alcuna influenza sul comportamento rispetto ai solventi.

C. K. Francis e D. G. Morgan ⁽³⁾ apportano modifiche al metodo Babcock. G. H. Supplee e B. Bellis ⁽⁴⁾, sostengono che il metodo Gottlieb-Röse sia il più idoneo, mentre invece C. H. Biesterfeld e O. L. Evenson ⁽⁵⁾ asseriscono che esso dia dei risultati inferiori del 0,04 e ne propongono una modificazione consistente nell'estrarre nuovamente, previo riscaldamento a circa 80° C. per dieci minuti con acido acetico al 60-65%, in

⁽¹⁾ CH. PORCHER, *Ann. Fals.*, 9, 453 ((1916).

⁽²⁾ H. JEPHCOTT, *Analyst*, 48, 529 (1923).

⁽³⁾ C. K. FRANCIS e D. G. MORGAN, *Chem. Cent.*, 1191, I (1918).

⁽⁴⁾ G. H. SUPPLÉE e B. BELLIS, *Chem. Cent.*, 615, IV (1923).

⁽⁵⁾ C. H. BIESTERFELD e O. L. EVENSON, *Chem. Cent.*, 1192, I (1918).

speciali tubi, il residuo ottenuto dalla prima estrazione, con una miscela solvente da loro studiata. Essi sono dell'opinione che i risultati maggiori ottenuti con il metodo Harding-Parkin debbano essere attribuiti all'uso di tappi di gomma nell'estrazione con solventi.

Per H. Jephcott ⁽²⁾ il metodo di Röse-Gottlieb può dare risultati non soddisfacenti a causa della possibile non completa soluzione del latte e per eventuali accumuli di residui di etere ed etere di petrolio, ed aggiunge che il metodo modificato così, come viene applicato dal dipartimento dell'agricoltura degli Stati Uniti, può dare risultati inferiori di circa il 2%. Egli è del parere di applicare il metodo Werner-Schmidt, al quale apporta delle modificazioni nella manualità, nella quantità di solvente e nel tempo di ebollizione, che non deve eccedere i tre minuti, perchè possono essere calcolate come grasso alcune sostanze contenute nella polvere che, per effetto del prolungato riscaldamento, possano rendersi solubili in etere, oppure, qualora venga usato etere di petrolio possano da questo solvente essere meccanicamente trascinate.

Con il metodo di Gerber, applicato usando, invece della soluzione, g 1,69 di polvere ed assumendo come percentuale i $\frac{2}{3}$ della lettura, ottiene risultati soddisfacenti ed in un confronto fra questo e quello di Werner-Schmidt, ha trovato uno scarto analitico medio di g 0,06% in meno del secondo rispetto al primo, mentre dai dati riportati di una casistica di laboratorio di 100 campioni, eseguita senza speciali precauzioni, risulta che per 15 campioni ha trovato risultati identici, in 67 differenze contenute fra 0,1 e 0,3%, in 6 fra 0,4 e 0,5% e solamente in due la differenza è rispettivamente di 0,6 e 0,7%.

Alla stessa conclusione giungono L. H. Lampitt, E. B. Hughes e M. Bogod ⁽⁶⁾ i quali in una rivista dei metodi, comprendenti quelli di Babcock, Gerber, eseguito con quantità diverse di alcool amilico, Röse-Gottlieb, Werner-Schmidt, modificato da Majonnier, affermano che i migliori sono quest'ultimo e quello di Gerber. Anche J. Tillmans e R. Strohecker ⁽⁷⁾ sono favorevoli all'impiego del metodo Gerber, eseguito su g 2,5 di prodotto, mentre dicono che il metodo per estrazione diretta con solventi non è applicabile a causa della pellicola di protezione che si forma

⁽⁶⁾ L. H. LAMPITT, E. B. HUGHES e M. BOGOD, *Analyst*, 49, 413 (1924).

⁽⁷⁾ J. TILLMANS e R. STROHECKER, *Zeit. Untersuch. Lebensm.*, 47, 377 (1924).

intorno alle particelle di grasso, e quello di Röse-Gottlieb, nel quale, secondo J. T. Keister ⁽⁸⁾ l'aggiunta di ammoniaca non apporta alcun vantaggio, non dà risultati soddisfacenti.

F. Richard ⁽⁹⁾, poichè per effetto del calore, verrebbe a formarsi un vero composto fra proteina e grasso, è del parere che non possa usarsi il metodo per estrazione diretta con etere e, dato che, in sue esperienze, trova risultati del 0,6 - 1,9% inferiori a quelli ottenuti con il metodo di Weibull, consiglia l'uso di questo metodo o di quello di Teichert, che è molto simile a quello di Gerber.

D. Florentin ⁽¹⁰⁾, sperimentando su latte in polvere non zuccherato, giunge a risultati del tutto opposti a quelli trovati da Richard ed è del parere che per questi prodotti il metodo migliore sia quello dell'estrazione diretta del grasso con etere. Per i prodotti zuccherati, invece, questo metodo non è applicabile e consiglia di usare, anche secondo quanto afferma M. Filandeau, uno dei metodi che comporta la soluzione del latte, e cioè Gerber, Adam, Weibull ed altri. Anche F. T. Nottbohm ⁽¹¹⁾ consiglia procedimenti diversi di determinazione a secondo che trattasi di prodotti zuccherati o meno. Infatti per il latte in polvere non zuccherato applica il metodo di Schmid-Bondzynski con le modalità descritte anche da W. Mohr ⁽¹²⁾, il quale a sua volta, consiglia di usarlo senza alcuna distinzione di prodotti, mentre per quelli zuccherati segue, con qualche leggera modificazione di dettaglio, il metodo Weibull.

A. Schoojans ⁽¹³⁾, in una rivista di metodi, osserva che nelle determinazioni del grasso con il metodo di Gerber si hanno delle perdite di circa il 3% rispetto ai dati che si ottengono con quello di Weibull o di Teichert.

U. P. Schulz e C. Steinhoff ⁽¹⁴⁾ preferiscono, invece, il metodo di Gerber. Secondo A. Stoeker ⁽¹⁵⁾ i migliori risultati si ottengono con il metodo di Weibull e lo consiglia nell'esecuzione di analisi molto precise

⁽⁸⁾ J. T. KEISTER, Chem. Centr., 2562, II (1924).

⁽⁹⁾ F. RICHARD, Chem. Centr., 2520, I (1926); Chimie Industrie, 16, 302 (1926).

⁽¹⁰⁾ D. FLORENTIN, Ann. Fals., 25, 88 (1932).

⁽¹¹⁾ F. T. NOTTBOHM, Chimie Industrie, 31, 430 (1934).

⁽¹²⁾ W. MOHR, Le Lait, 17, 636 (1937).

⁽¹³⁾ A. SCHOOJANS, Chimie Industrie, 15, 803 (1926).

⁽¹⁴⁾ U. P. SCHULZ e C. STEINHOFF, Chimie Industrie, 32, 187 (1934).

⁽¹⁵⁾ A. STOEKER, Chimie Industrie, 28, 180 (1932).

per le quali possono anche essere usati quelli di Ralzlaff e di Gottlieb-Röse, mentre, per le analisi rapide di controllo di fabbricazione, è del parere di usare quelli di Teichert, Rusche e Friedel.

Opposta è, invece, l'opinione di Ardenghi Ana Otilia ⁽¹⁶⁾, che ritiene non soddisfacente, specialmente con prodotti zuccherati, il metodo di Weibull ed applica quello di Werner-Schmidt perchè più semplice e più rapido, preferendolo anche a quello di Röse-Gottlieb, che richiede una tecnica minuziosa e complicata. Critiche a questi due ultimi metodi sono contenute nel rapporto del Sottocomitato dei prodotti del latte al Comitato dei metodi analitici ⁽¹⁷⁾ nelle quali, pur riconoscendo una buona attendibilità ai risultati che si ottengono, viene messa in evidenza la possibilità di avere scarti analitici sensibili dovuti per il metodo di Röse-Gottlieb, come è già stato osservato da Jephcott ⁽²⁾, alla eventuale formazione, specialmente con prodotti zuccherati, di altri prodotti che, essendo solubili in etere, vengono in fine calcolati come grasso, aumentandone così, il valore reale, mentre quello di Werner-Schmidt tende, in modo particolare con prodotti vecchi, a dare risultati più bassi del vero contenuto. Per queste ragioni il Sottocomitato ha elaborato un metodo ad « estrazione acida », che può essere applicato con successo a tutti i campioni di latte in polvere, indipendentemente dal sistema con il quale sono stati prodotti, compresi quelli zuccherati. Il metodo proposto può considerarsi la risultante di una fusione di quelli di Röse-Gottlieb e di Werner-Schmidt, ai quali vengono apportate delle modificazioni consistenti nell'impiego di maggiore quantità di miscela solvente ed in un maggior numero di manipolazioni che rendono il metodo più lungo, ma secondo i compilatori del rapporto, più atto alla completa estrazione del grasso.

In determinazioni ripetute parecchie volte sugli stessi campioni lo scarto analitico trovato fu inferiore al 0,2%.

Rossée e Morgenstern ⁽¹⁸⁾ sono del parere di usare il metodo di Grossfeld. Altri metodi vengono consigliati da Harry Hurst ⁽¹⁹⁾ e da C. Carrez, quest'ultimo riportato ed applicato da A. Schloemer e G. Catravas ⁽²⁰⁾.

⁽¹⁶⁾ ARDENGHI ANA OTILIA, *Chimie Industrie*, 43, 341 (1940).

⁽¹⁷⁾ *Analyst*, 61, 105 (1936).

⁽¹⁸⁾ ROSSÉE e MORGENSTERN, *Chem. Centr.*, 814, I (1929).

⁽¹⁹⁾ HARRY HURST, *Analyst*, 50, 438 (1925).

⁽²⁰⁾ A. SCHLOEMER e G. CATRAVAS, *Zeit. Untersuchung. Lebensm.*, 79, 459 (1940).

Il primo consiste nell'esaurire con etere il precipitato ottenuto aggiungendo ad una soluzione al 10% di latte in polvere del ferro dializzato, mentre il secondo viene così descritto: g 10 di prodotto si sciolgono per quanto è possibile in cm^3 200 di acqua, si aggiungono cm^3 5 di acido cloridrico al 25% e si riscalda su bagno-maria fino a decomposizione. Si aggiunge al miscuglio una soluzione di soda caustica al 33%, impiegando come indicatore il rosso-congo, fino a quasi neutralizzazione, lasciando, cioè, una reazione leggermente acida e quindi vengono aggiunti cm^3 5 di una soluzione di ferrocianuro di potassio (150 g/l) e cm^3 5 di una soluzione di acetato di zinco (300 g/l). Il precipitato che si ottiene, il quale contiene anche il grasso, viene separato per filtrazione, lavato e quindi, previo essiccamento, esaurito con etere.

Il metodo di determinazione del grasso per estrazione diretta a mezzo di solventi è stato molto ampiamente studiato da L. H. Lampitt e J. H. Bushill ⁽²¹⁾ e da G. Genin ⁽²²⁾, i quali, prendendo in considerazione la struttura chimico-fisica delle particelle che compongono il latte in polvere, hanno cercato di individuare la cause che impediscono l'applicazione di questo metodo, e, nello stesso tempo, hanno cercato di fissare condizioni di sperimentazione tali da permettere al solvente di asportare tutto il grasso contenuto nel prodotto.

Così, le osservazioni di Washburn, di Miyawaki e di Palmer e Dahle, i quali, oltre a constatare che i solventi estraggono solamente circa il 10% del grasso presente, ricorrono, per colorare le particelle di grasso contenute in una polvere di latte essiccata a « spruzzo », all'accorgimento di inumidire il prodotto con alcool o con formalina o con acetone, prima dell'aggiunta della sostanza colorante, suggerirono a Lampitt e Bushill di proporre un metodo « tipo » per ricavare la parte di grasso direttamente solubile nei solventi, alla quale attribuirono la denominazione di « grasso libero » usata in precedenza da Holm, Gremlank e Deysher. Il metodo consiste nelle sue linee generali nel lasciare a contatto per diciotto ore consecutive g 2 di latte in polvere con cm^3 100 di solfuro di carbonio secco, avendo cura di agitare il miscuglio occasionalmente nelle prime ore.

Dopo questo tempo si filtra e si raccolgono, in un matraccio, in precedenza essiccato e tarato, esattamente 50 cm^3 di filtrato, che si evaporano;

⁽²¹⁾ L. H. LAMPITT e J. H. BUSHILL, 50, 45 T. (1931).

⁽²²⁾ G. GENIN, *Le Lait*, 11, 589 (1931).

il residuo viene essiccato in stufa a vuoto e quindi pesato. Differenti condizioni di esecuzione, come il tempo di estrazione protratto anche per quindici giorni (*), oppure se l'estrazione è condotta lasciando in riposo od agitando più o meno violentemente la miscela polvere-solvente, non hanno alcuna influenza. Ha invece molta influenza il sistema di fabbricazione delle polveri, in quanto mentre quelle prodotte con il processo « a spruzzo » cedono solo dal 3 al 14% (**), del loro contenuto di grasso, quelle ottenute con il processo a « cilindri » ne cedono 91-96%. Questa osservazione è in contrasto con quanto riferisce Porcher (¹) il quale non nota alcuna differenza derivante dal sistema di fabbricazione. Questa diversità di comportamento viene posta in relazione alla grandezza delle particelle che compongono la polvere. Infatti da una polvere a « spruzzo » sottoposta a macinazione molto spinta è stato ottenuto circa l'83% di « grasso libero » quasi uguagliandosi, così, a quelle del processo a cilindri, che, dopo l'essiccamento vengono sottoposte a macinazione e passate attraverso speciali vagli. Così una nuova macinazione di queste polveri non aumenta il contenuto in « grasso libero ».

La quantità di « grasso libero » che si ottiene con il metodo riportato dagli autori è diversa da quella ottenuta con il metodo Soxhlet, infatti operando sullo stesso campione sei successive estrazioni di sette ore ciascuna, usando solfuro di carbonio secco, rinnovato ad ogni estrazione, ottennero rispettivamente le seguenti percentuali: 6,11 - 4,25 - 2,21 - 1,55 - 1,35 e 1,45, raggiungendo, così, il 58,3% del grasso presente. Secondo gli Autori anche la quantità di umidità iniziale contenuta dal campione non ha alcuna influenza, però l'aumento di essa favorisce la liberazione del grasso e si può stabilire un tenore di « umidità critica », il cui valore varierebbe tra l'8,6 ed il 9,2%, con il quale si avrebbe il massimo di « grasso libero » arrivando anche al 100% del grasso presente; una percentuale maggiore di umidità avrebbe un effetto contrario.

Secondo Richard (⁹) il massimo di umidità che può essere assorbito da una polvere di latte è l'8%.

(*) Viene anzi notato che nei primi 5 minuti si estrae la quasi totalità della quantità di grasso ottenuta dopo 15 giorni di contatto, ciò conferma la rapidità di estrazione diretta con solventi, già osservate da altri autori.

(**) P. WEINSTEIN (²⁴) riuscì ad estrarne solamente l'1%.

L'assorbimento di umidità porta una sensibile variazione nell'aspetto della polvere, la quale durante il processo assume diversi aspetti fino a divenire « polverosa », quest'ultimo coinciderebbe con il punto di « umidità critica ».

Ci sembra che venga di conseguenza, pertanto, che la quantità di « grasso libero » non possa essere assunta quale carattere differenziale fra le polveri ottenute con i due sistemi di lavorazione perchè esso, essendo in funzione dell'umidità assorbita, può aumentare anche in una polvere essiccata a « spruzzo », la quale, durante le varie manipolazioni o per effetto di qualche possibile deficienza di lavorazione, abbia assorbito umidità e risulti, così, contenere una percentuale di acqua maggiore di quella che normalmente viene riscontrata. Anche A. Schloemer e G. Catravas ⁽²⁰⁾, in loro esperienze, hanno trovato un latte in polvere, microscopicamente riconosciuto come prodotto con il sistema a « cilindri », il quale all'estrazione diretta del grasso a mezzo di solventi aveva quasi lo stesso comportamento di quelli essiccati con il sistema a « spruzzo ». A questo proposito Reavell osserva che le polveri essiccate con lo stesso sistema ed anche con lo stesso apparecchio possano presentare caratteri differenti.

L'effetto dell'assorbimento dell'umidità sarebbe dovuto al passaggio, confermato dall'esame microscopico, dallo stato amorfo allo stato cristallino del lattosio, avvalorando così l'ipotesi che l'involucro protettivo delle particelle di grasso delle polveri essiccate a « spruzzo », sia costituito da lattosio amorfo e non dalle sostanze proteiche, contenute nel latte, come fu affermato da altri autori, fra i quali lo stesso Genin ⁽²²⁾. La stessa azione viene esercitata dall'alcool di 95°.

Anche H. Schmalfuss ⁽²³⁾ attribuisce agli zuccheri la non applicabilità del metodo di estrazione diretta del grasso.

L'azione dell'umidità non è reversibile, cioè sottoponendo ad essiccamento una polvere che ha raggiunto il grado di « umidità critica » non perde la proprietà acquisita dall'assorbimento dell'umidità, della quale tende a trattenere il 4-5%.

Secondo Genin questa percentuale permane anche dopo 532 ore di essiccamento.

(23) H. SCHMALFUSS, J. Soc. Chem. Ind., 960, Abstr. B. (1939).

(24) P. WEINSTEIN, Zeit. Unters. Lebensm., 59, 515 (1930).

In conclusione nè Lampitt e Bushill nè Genin ritengono che la non applicabilità del metodo dell'estrazione diretta dipenda esclusivamente dalla presenza del lattosio e, mentre affermano che il passaggio di esso dallo stato amorfo a quello cristallino agevola la messa in libertà della sostanza grassa, si riservano di studiare l'influenza che esercitano sul metodo le sostanze proteiche.

A. Schloemer e E. Langmann ⁽²⁵⁾, in relazione, forse a quanto era stato dimostrato circa l'azione dell'acqua sull'involucro esistente nelle polveri essiccate a « spruzzo », consigliano di applicare al metodo di estrazione diretta del grasso un accorgimento analitico che rende questo metodo più idoneo allo scopo. Infatti, essi prima di sottoporre ad estrazione un latte in polvere, ottenuto con il sistema a « spruzzo », lo diluiscono con sabbia, inumidiscono il miscuglio con acqua od alcool e quindi essiccano a 105° C oppure a temperatura ambiente in essiccatore a cloruro di calcio. Questo procedimento è stato messo in atto dallo stesso Schloemer, il quale, in collaborazione con G. Catravas ⁽²⁰⁾, ha condotto una serie di esperienze su polveri prodotte con i due processi industriali. Parallelamente è stato eseguito il dosaggio del grasso con i metodi di Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff, i cui valori vengono ritenuti come la quantità effettivamente presente, e di Carriez. I dati riportati dimostrano che le modalità adottate permettono di estrarre, per mezzo dell'etere etilico, la quasi totalità del grasso esistente. Le cifre ottenute non sono del tutto concordanti con quelle dei metodi presi per il confronto e mostrano delle differenze che variano irregolarmente in più od in meno. Questo andamento irregolare può essere messo in relazione con la diversa tecnica seguita nelle determinazioni, poichè per fissare le migliori condizioni di sperimentazione, alcune prove furono inumidite con alcool ed altre con acqua, e, così pure, fu variato il sistema di essiccamento che fu eseguito per alcune in stufa a 105° C e per altre a temperatura ambiente in essiccatore a cloruro di calcio.

Dai risultati così ottenuti Schloemer e Catravas ne deducono che il rivestimento, il quale impedisce nel latte in polvere prodotto a « spruzzo », la diretta estrazione del grasso con etere, sia costituito da lattosio amorfo, poichè mentre un riscaldamento non altera il comportamento della polvere, esso viene, invece, alterato da un semplice inumidimento con acqua,

⁽²⁵⁾ A. SCHLOEMER e E. LANGMANN, Zeit Unters. Lebensm., 78, 37 (1939).

che non dovrebbe causare alcuna modificazione se il rivestimento fosse costituito da sostanze albuminoidi.

La rassegna della letteratura riportata, pur avendo messo in rilievo i pregi e i difetti di ciascun metodo preso in considerazione non ce ne ha indicato uno definitivo che possa essere seguito con sicurezza. D'altro canto anche i vari trattati di analisi chimiche bromatologiche consigliano di applicare l'uno o l'altro metodo. Infatti V. Villavecchia ⁽²⁶⁾ consiglia quello di Gerber da eseguirsi sulle soluzioni del latte diluito in modo che contengano circa il 12% di residuo secco; Allen ⁽²⁷⁾ riporta il metodo di Gottlieb; Bömer ⁽²⁸⁾ lascia facoltà di applicare lo Schmid-Bondzynski o il Gerber, impiegando g 2,5 di latte in polvere ed il butirrometro di Teichert, quest'ultimo viene anche consigliato da Beythien ⁽²⁹⁾; nel « Manuel Suisse » ⁽³⁰⁾ vengono indicati i metodi di Gerber-Van Gulik e di Röse-Rieter; i metodi ufficiali americani A.O.A.C. ⁽³¹⁾ riportano quello di Röse-Gottlieb e quello di Babcock, ed infine Kling ⁽³²⁾ consiglia di esaurire con etere g 2 di polvere di latte.

I laboratori di analisi della maggior parte delle fabbriche italiane usano per i loro controlli, secondo quanto ci è stato riferito, quasi tutti il metodo di Gerber, applicato con diversa tecnica, lavorando sia su soluzioni, sia direttamente sulla polvere e impiegando butirrometri di vario tipo.

Da quanto ci risulta, solamente in una fabbrica viene seguito il metodo di Röse-Gottlieb per il controllo di alcuni prodotti, mentre per altri il tenore in grasso viene determinato per estrazione con etere.

⁽²⁶⁾ V. VILLAVECCHIA, Trattato di chimica analitica applicata, III ed., vol. II, pag. 530, Hoepli, Milano, 1937.

⁽²⁷⁾ Allen's-Commercial Analysis Organic, vol. IV, pag. 177, J. A. Churchill, Londra, 1932.

⁽²⁸⁾ A. BÖMER, Handbuch d. Lebensmittelchemie, vol. III, pag. 228, J. Springer, Berlino, 1936.

⁽²⁹⁾ A. BEYTHIEN, Laboratoriumsbuch f. d. Lebensmittelchemiker, III ed., pag. 127, T. Steinkopff, Dresda-Lipsia, 1942.

⁽³⁰⁾ Manuel Suisse des Denrées Alimentaires, III ed., pag. 30, Neukomm e Zimmermann, Berna, 1919.

⁽³¹⁾ Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, III ed., pag. 217, A.O.A.C., Washington D. C., 1930.

⁽³²⁾ A. KLING, Methodes actuelles d'expertises, vol. I, pag. 112, Dunod, Parigi, 1921.

PARTE SPERIMENTALE

Le ricerche da noi condotte non hanno avuto lo scopo di trovare un altro metodo di determinazione del grasso nel latte in polvere, bensì quello di cercare di fissare, sulla scorta della letteratura al riguardo consultata, modalità sperimentali che rendessero uno dei metodi esistenti più idoneo ad ottenere risultati, se non rigorosamente esatti, riproducibili.

La nostra attenzione fu perciò rivolta a quei metodi che, per semplicità di esecuzione e per numero limitato di manipolazioni, potessero essere realizzati, come nella maggior parte dei casi la pratica di laboratorio richiede, con celerità evitando, così, errori materiali dovuti ad eventuali perdite durante le varie manipolazioni.

Pertanto, sono stati presi in considerazione il metodo di estrazione diretta per mezzo di solventi e quello di Gerber, eseguendo la determinazioni in parallelo sugli stessi campioni. Quest'ultimo fu scelto quale rappresentante di quei metodi di dosaggio consigliati in cui tutte le sostanze componenti il latte in polvere, ad eccezione del grasso, vengono distrutte e la determinazione si effettua senza bisogno di impiegare solventi. In alcuni casi, per avere dei dati di confronto, non è stato ommesso di eseguire delle prove con altri metodi più laboriosi e ritenuti da vari Autori di molta precisione. Poichè ottenemmo dei risultati quasi sempre concordanti con quelli dei metodi in esame abbiamo ritenuto superfluo riportarli nelle relative tabelle. Il metodo di Gerber fu applicato usando sia la soluzione del latte in polvere (g 12 di prodotto sciolti nella quantità di acqua necessaria per avere un volume di cm^3 100 di soluzione), sia direttamente la polvere nelle quantità riportate dalla letteratura. Poichè nella centrifugazione il grasso si separa da questi prodotti molto lentamente, questa operazione fu fatta durare circa mezz'ora, avendo cura di eseguire la lettura dopo aver tenuto per un tempo sufficiente il lattobutirrometro immerso in un bagno di acqua riscaldata a $65-70^\circ \text{C}$.

L'applicazione del metodo di dosaggio per estrazione diretta per mezzo di solventi fu preceduta da una serie numerosa di esperienze preliminari tendenti a stabilire quale solvente fosse più rispondente allo scopo prefissoci. I solventi presi in esame furono l'etere etilico, l'etere di petrolio, il cloroformio, il tricloroetilene ed il solfuro di carbonio. Essi furono impiegati allo stato anidro. Le estrazioni furono eseguite in comuni appa-

recchi a ricadere del tipo Soxhlet, le cui parti costituenti erano unite per mezzo di smerigliature ad ottima tenuta.

Benchè dalla letteratura si fosse potuto dedurre, in linea generale, il tempo necessario per ottenere la completa estrazione del grasso presente, esso fu da noi controllato per ciascun solvente in esame interrompendo, dopo un numero stabilito di ore, l'operazione e pesando il residuo contenuto nel palloncino raccoglitore, previo essiccamento in stufa alla temperatura di circa 90° C, fino a costanza di peso. Durante le interruzioni si ebbe cura di lasciare il ditale contenente il prodotto nell'estrattore e coperto dal solvente.

Per poter stabilire le condizioni sperimentali migliori, le estrazioni furono condotte sia sul latte in polvere così come ci pervenne dalle Case produttrici, sia dopo averlo privato del naturale suo contenuto in acqua sia, infine, diluendolo con sabbia silicea molto fine alla quale fu aggiunto, per aumentare la superficie di contatto con il solvente, del quarzo in piccoli pezzi.

Nel corso di queste esperienze preliminari, abbiamo dovuto abbandonare l'impiego del tricloetilene e del solfuro di carbonio perchè si dimostrarono privi di pratica utilità. Inoltre il solfuro di carbonio, a causa del prolungato riscaldamento, tende a decomporsi liberando solfo ed il tricloroetilene rimanendo per lungo tempo a contatto con il ditale, contenente il miscuglio da estrarre, lo intacca profondamente rendendolo friabile e permettendo, così, che le parti più fini del prodotto vengano trasportate dalla corrente del solvente nel palloncino raccoglitore.

L'etere etilico e l'etere di petrolio hanno quasi uguali proprietà estrattive ed, in generale, abbiamo potuto constatare che il sistema con il quale il latte in polvere è stato preparato influisce in modo sensibile sul loro comportamento. Dalle nostre osservazioni non si è potuto, però, dedurre con esattezza che essi riescano ad estrarre la quasi totalità del grasso presente da prodotti ottenuti con il sistema a « cilindri » e solamente una piccola quantità da quelli a « spruzzo » perchè in alcuni casi, da questi ultimi se ne estrarono quantità di poco inferiori alla totalità. Nelle nostre esperienze, infatti, abbiamo potuto constatare che da alcuni prodotti preparati dalla stessa Casa fabbricante e con lo stesso sistema di lavorazione, cioè a « spruzzo » si ottennero risultati diversi. Così per es., mentre da campioni di latte in polvere del tipo « normale » questi due solventi riu-

scirono ad estrarre, protraendo di parecchie ore l'operazione, solamente il 12,2% della quantità di grasso dichiarata, da quelli del tipo « mezza crema » invece, raggiunsero il 92,8%. Questo comportamento tanto diverso non fu potuto spiegare con il loro primitivo contenuto in acqua, essendo questo quasi uguale, ed al di sotto del 2%, per ambedue i tipi di campioni.

D'altra parte un tenore in acqua così poco elevato doveva ritenersi come il naturale contenuto di una polvere di latte e faceva escludere che potesse essere avvenuta una qualsiasi modificazione, a causa di assorbimento di umidità dall'atmosfera, nella struttura fisica delle particelle componenti la polvere stessa. Pertanto, non essendovi stato assorbimento di acqua ed essendo molto lontani da un contenuto di « umidità critica » si dovette ammettere, poichè era anche da escludersi che le differenze trovate si potessero attribuire a scarti analitici rappresentando i dati le medie di parecchie determinazioni, che le quantità di grasso trovate rappresentassero, usando la denominazione applicata da L. H. Lampitt e J. H. Bushill ⁽²¹⁾, il « grasso libero » dei due tipi di latte in polvere, confermando le osservazioni di Reawell circa la possibilità che prodotti essiccati con lo stesso sistema e lo stesso apparecchio presentino caratteri diversi. Inoltre alte percentuali, che raggiunsero alle volte il 100%, furono trovate lavorando su campioni di latte in polvere acido sia del tipo « intero » che « mezza crema » preparati con il sistema a « spruzzo ».

Risultati più alti e più prossimi ai valori dichiarati si ottennero usando, come solvente, il cloroformio. Si osservò che sul potere estrattivo di questo solvente non aveva alcuna influenza nè il sistema impiegato per la preparazione nè il tipo di latte in polvere in esame. L'estrazione avveniva più rapidamente raggiungendo dati pari, od alle volte, più elevati di quelli ottenuti con il metodo di Gerber. Da un campione del tipo « mezza crema » essiccato con il metodo a « spruzzo » con valore dichiarato di grasso del 17% si ottennero i seguenti valori: con etere di petrolio 2,90%, con etere etilico 5,35%, con cloroformio 16,70% e con il metodo di Gerber 16,65%.

Il preventivo essiccamento della sostanza, data la piccola quantità di acqua quasi sempre contenuta, non influì sensibilmente sull'estrazione, mentre la diluizione con sabbia e quarzo la rese alquanto più rapida.

Il tempo occorso per raggiungere la costanza dei risultati variò moltissimo dall'uno all'altro solvente; così con l'etere di petrolio si registrarono tempi varianti fra le 20 e le 25 ore, con l'etere etilico si giunse anche a 30 ore di estrazione, mentre con il cloroformio si arrivò ad un massimo di 18 ore.

Venne anche constatato che i solventi usati, come pure il solfuro di carbonio, estraggono nelle primissime ore della operazione quasi tutta la quantità di grasso che, con il loro impiego si ottiene nei periodi massimi di tempo registrati.

Infatti nelle nostre esperienze abbiamo trovato che praticamente si raggiunge il 90 ed anche 95% di tale quantità, nelle prime tre ore di estrazione, confermando quanto già avevano osservato in proposito altri Autori.

Poichè nel corso di queste esperienze preliminari avemmo, inoltre, modo di osservare che interrompendo l'estrazione e lasciando evaporare l'etere etilico dal prodotto, contenuto nel ditale, spontaneamente all'aria e risottoponendolo ad estrazione, previo essiccamento, si ottenevano rapidamente dei valori che, pur non raggiungendo le quantità realmente contenute, ad esse si avvicinavano, fummo indotti ad eseguire la determinazione del grasso applicando l'accorgimento sperimentale adottato da A. Schloemer e E. Langmann ⁽²⁵⁾, che consiste nel sottoporre ad estrazione il prodotto dopo averlo prima inumidito con acqua od alcool e poi essiccato in stufa a 105° C.

Le modalità sperimentali, da noi eseguite, furono le seguenti: g 5 di prodotto furono diluiti con g 40 di sabbia silicea, in precedenza fortemente calcinata, alla quale furono aggiunti g 20 di quarzo in minuti pezzetti, cercando di ottenere una miscela il più possibile uniforme. Il miscuglio, così preparato, fu posto in un ditale da estrazione ed aggiunto di 50 cm³ di acqua o di alcool. Dopo un breve riposo alla temperatura ambiente, per dar modo al liquido di diffondersi uniformemente, il ditale fu posto in stufa a 105° C.

Il tempo di essiccamento fu determinato sperimentalmente nel modo seguente: fu preparata, nelle identiche condizioni descritte, una numerosa serie di miscugli che fu posta in stufa a 105° C. Dopo ogni successiva ora di essiccamento si tolsero gli interi contenuti di due ditali, uno inumidito con alcool e l'altro con acqua, e si misero in pesafiltri. Questi, a loro volta,

dopo essere stati pesati, furono collocati in stufa alla stessa temperatura per controllare se i miscugli fossero ritornati o meno allo stato secco. In questo modo abbiamo potuto constatare che l'alcool si allontana abbastanza rapidamente lasciando il prodotto allo stato di suddivisione primitivo, mentre l'acqua viene scacciata molto più lentamente ed il prodotto tende a formare dei piccoli grumi che, anche per prolungato riscaldamento, rimangono quasi inalterati. Il completo essiccamento era praticamente raggiunto in circa due ore in presenza di alcool ed in circa otto in presenza di acqua. Così abbiamo ritenuto opportuno adottare nelle nostre esperienze l'inumidimento con alcool. Come solvente usammo, invece dell'etere etilico consigliato da Schloemer e Langmann, il cloroformio perchè con esso, come si è riportato, abbiamo ottenuto direttamente sempre dati più vicini alle quantità di grasso realmente contenute nei prodotti, raggiungendo la costanza dei risultati in tempi minori di quelli impiegati con gli altri solventi.

Nella tabella I sono riportati, unitamente alle quantità di grasso dichiarate dalle Case produttrici, i risultati ottenuti impiegando questa tecnica analitica mettendoli a confronto con quelli trovati, sia applicando il metodo Gerber, sia sottoponendo ad estrazione con lo stesso cloroformio e con l'etere etilico gli stessi campioni di latte in polvere senza alcun trattamento preliminare, ad eccezione della diluizione con sabbia e quarzo.

I dati riportati rappresentano le medie di almeno quattro determinazioni, eseguite anche allo scopo di controllare la riproducibilità dei risultati.

L'entità delle differenze riscontrate fra una determinazione ed un'altra, lavorando sempre nelle stesse condizioni sperimentali descritte, non fu molto elevata. Gli scarti analitici massimi, infatti, furono del 2,05% per l'etere etilico, dell'1,50% per l'etere di petrolio, del 0,15% per il cloroformio sul prodotto tal quale, del 0,50% per il cloroformio sul prodotto sottoposto in precedenza ad inumidimento con alcool e dell'1% con il metodo di Gerber. Riteniamo che queste cifre, sebbene siano sensibili per uno studio del tutto teorico non apportino alcuna pratica influenza nell'espletamento di una comune analisi. Inoltre è da tenere presente che ci si trova di fronte a prodotti industriali e che quasi tutti i campioni da noi sottoposti ad esame non erano formati dalle sole sostanze che costituiscono il latte naturale, bensì erano costituite da miscele formate da esse

PERCENTUALE DI GRASSO

TABELLA I.

Num.	Tipo dichiarato di latte in polvere	Sistema di lavorazione industriale	Dichiarata	Trovata con il metodo Gerber	Estratto con etere etilico	Tempo in ore	Estratto con cloroformio	Tempo in ore	Estratto con cloroformio previo inu- midimento con alcool	Tempo in ore	Umidità
1	Intero	a spruzzo	24	25	21,60	24	25,75	18	25,25	13	2,18
2	»	»	21,5	21,45	20,40	20	21,05	12	21,20	10	1,92
3	Intero-acido	»	26	25,83	25,34	29	26,48	18	26,50	11	2,00
4	Normale	»	17	17,5	15,21	27	17,30	19	16,80	13	2,97
5	»	»	16,65	15,83	10,01	28	15,84	20	11,74	11	3,09
6	»	a cilindri	20	18,33	19	28	19,19	19	19,40	13	5,33
7	»	a spruzzo	16	13,75	13,57	30	13,85	15	13,80	12	3,90
8	»	»	16	14,58	1,95	28	14,77	19	14,50	11	1,30
9	»	»	16	13,30	3,67	28	16,03	18	16,60	12	3,61
10	Normale-acido	»	21	19,14	18,80	26	19,35	16	19,50	13	5,70
11	»	»	27	25,83	15,20	30	25,84	17	26,73	13	2,90
12	Mezza crema	»	11	9,58	9,01	33	8,99	16	9,05	12	5,48
13	»	a cilindri	10	8,75	9,98	30	9,99	18	9,80	11	5,87
14	»	a spruzzo	12	11,45	1,37	26	10,88	12	10,70	9	2,15
15	»	»	11,5	10	9,28	30	11,42	20	10,30	13	1,91
16	»	»	11	8,75	1,75	32	8,80	20	10,09	12	3,11
17	»	»	10	9,58	8,78	28	10,20	16	8,06	12	2,86
18	»	»	10	8,75	8,07	30	8,78	19	7,60	12	3,23
19	»	»	12	14,58	15,10	28	15,67	18	15,00	13	8,38
20	»	»	11	17,70	4,30	32	16,05	17	16,05	12	3,85
21	»	»	14,16	12,90	10,40	26	12,43	15	12,83	10	2,00
22	Mezza crema acido	»	10	10,45	9	28	9,40	14	10,00	12	5,95
23	»	»	11	13,30	2,31	28	7,73	18	13,70	11	1,39
24	»	»	12	11,66	7,40	30	14,27	17	10,74	12	3,98
25	Latticello	a cilindri	6,5	5,80	5,67	26	6,34	17	6,30	10	6,34
26	»	a spruzzo	14	13,75	13,79	32	13,58	16	13,60	12	4,24

con aggiunta di altre sostanze estranee. Pertanto, sia che l'industria renda omogenei, con i ben perfezionati apparecchi di mescolamento a disposizione, questi miscugli allo stato secco sia che sottoponga a polverizzazione il latte naturale già miscelato con le soluzioni delle varie sostanze che desidera aggiungere, può avvenire che una parte aliquota di essi risulti leggermente più ricca di un costituente piuttosto che di un altro e viceversa.

Ai nostri scopi sono, invece, molto interessanti le differenze, riportate nella tabella II, che si deducono dal confronto dei risultati ottenuti usando per l'estrazione i vari solventi con quelli trovati applicando il metodo di Gerber e con i valori dichiarati. Abbiamo ommesso dalla tabella I come pure dal confronto, i dati ottenuti con l'etere di petrolio perchè essi sono sempre risultati molto inferiori agli altri e di nessun valore pratico.

Abbiamo notato che la tecnica di usare, per il metodo di Gerber, direttamente la polvere può essere di qualche utilità nei casi in cui si debba lavorare con prodotti poco solubili od acidi o scremati, mentre con gli altri prodotti, e specialmente con quelli ad alto tenore zuccherino, non si è dimostrato di pratica applicazione. Pertanto i dati riportati nella tabella I si riferiscono a determinazioni eseguite su soluzioni.

Dall'esame della tabella I si rileva che il cloroformio riesce ad estrarre, nella maggior parte dei casi in esame ed indipendentemente dal sistema di fabbricazione, la totalità del grasso presente ed i risultati ottenuti con l'impiego di questo solvente eguagliano quasi sempre quelli trovati con il metodo di Gerber. Le piccole differenze in più od in meno fra questo e l'altro gruppo di esperienze, che si rilevano dalla tabella II, possono essere spiegate con la non perfetta omogeneità del campione e questa ipotesi viene avvalorata dalle lievi differenze, anche loro in vario senso, tra i valori trovati applicando i due metodi e quelli dichiarati, i quali, in generale, rappresentano le medie di masse ingenti di prodotto. Analoghe differenze abbiamo potuto rilevare dal confronto fra i risultati delle analisi inviateci da alcune case produttrici ed eseguite nei loro laboratori di controllo sugli stessi prodotti, ed i valori dichiarati sugli involucri.

La tecnica di inumidire con alcool il prodotto prima di sottoporlo ad estrazione non ha indicato, pur avendo portato un sensibile vantaggio sulla durata dell'operazione poichè la costanza di peso si raggiunse in molto minor tempo, una vera soluzione del problema. Infatti i dati ottenuti seguono in generale lo stesso andamento di quelli trovati con l'estra-

zione diretta con il cloroformio sul prodotto tal quale e presentano quasi le stesse differenze in vario senso rispetto ai valori dichiarati ed a quelli risultati con il metodo di Gerber. Confrontando queste differenze con quelle che si deducono dall'esame delle esperienze riportate da Schloemer e Catravas (²⁰), possiamo constatare che fra di esse esiste una buona somiglianza sia nell'andamento sia nell'entità.

Molto più interessanti, per quanto privi quasi sempre di interesse pratico, sono i dati che abbiamo ottenuto per estrazione con etere etilico. Poichè la maggior parte dei campioni presi in esame erano stati fabbricati con il sistema « a spruzzo », le quantità di grasso estratte dovrebbero rappresentare il grasso che durante il procedimento dell'essiccazione non sarebbe stato rinchiuso negli involucri costituiti dalle altre sostanze coesistenti nel latte naturale, la cui formazione viene ammessa da parecchi Autori, e perciò facilmente aggredibile dal solvente ed al quale potrebbe attribuirsi la denominazione di « grasso libero ». Dai dati ottenuti appare chiaramente quanto sia differente l'entità di tale grasso nei diversi campioni esaminati. Infatti, pur facendo astrazione dalle cifre ottenute con il campione n. 19 dove si può supporre che la quantità di acqua trovata di 8,38 % possa rappresentare il tenore di « umidità critica » per quel prodotto e da quelle dei campioni in cui la quantità di acqua trovata avvicinandosi o superando il 5 % potrebbe avere apportato qualche modificazione nella struttura chimico fisica delle polveri stesse, si passa senza alcuna causa apparente (minimo contenuto di acqua), da valori percentuali molto bassi ad altri che raggiungono quasi il 100 % del grasso presente. Poichè nella denominazione « a spruzzo » abbiamo compreso tutte le polveri ottenute per essiccamento in corrente di aria calda senza fare alcuna distinzione circa la temperatura raggiunta nel processo od altre modalità di esecuzione, si è pensato di attribuire questa diversità di comportamento alle varie modificazioni apportate al sistema primitivo di essiccazione ed applicate con esclusività da ciascuna Casa produttrice.

Questa nostra supposizione, però, è venuta a cadere in seguito al confronto fra di loro dei gruppi di campioni 2-14 e 8-15, i quali, pur avendo la stessa provenienza (e cioè stessa Casa produttrice e di conseguenza stesso procedimento e molto presumibilmente stesso apparecchio) ed un contenuto in acqua molto basso hanno dimostrato un comportamento molto diverso rispetto all'etere etilico. Non ritenendo opportuno

di spiegare le cause di tale fenomeno perchè questo compito esulerebbe dall'indole del nostro lavoro e dagli scopi prefissici, non ci rimane che ammettere, come già osservò Redwell, che durante il procedimento di polverizzazione si vengano a generare condizioni tali per le quali alle volte le varie sostanze presenti essiccandosi formino attorno alle goccioline di grasso degli involucri ed altre volte no. D'altra parte sorgerebbe la risoluzione di un altro problema e cioè di individuare le cause per cui questi involucri che non permettono l'estrazione completa del grasso da un latte in polvere agli altri solventi lo permettano, nella maggior parte dei casi, come si può dedurre dal complesso dei risultati esposti, al cloroformio. Mentre ci riserviamo di studiare, appena possibile, questo problema, siamo del parere di consigliare che l'estrazione del grasso da un latte in polvere venga eseguita, nelle analisi correnti di laboratorio, con cloroformio applicando le modalità di esecuzione da noi descritte. Nei casi dubbi in cui i risultati ottenuti fossero molto differenti dai dichiarati, si potranno eseguire delle determinazioni di controllo sia con il metodo di Gerber sia applicando all'estrazione con cloroformio il preventivo inumidimento con alcool.

RIASSUNTO

Gli AA. dopo di avere messo in evidenza le cause che possono condurre a risultati inesatti nella determinazione del grasso nel latte in polvere, riportano una numerosa serie di esperienze al riguardo. Dai risultati ottenuti pervengono alla conclusione che il dosaggio del grasso possa essere eseguito, con esito soddisfacente, estraendo il latte in polvere con cloroformio. Nei casi dubbi, per confermare i dati ottenuti potranno essere eseguite determinazioni di confronto usando il metodo di Gerber o eseguendo l'estrazione con cloroformio sulla polvere in precedenza inumidita con alcool e quindi essiccata a 105° C.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di chimica.
