

73. Scipione ANSELMi — Su i metodi d'analisi del latte e dei prodotti lattiero-caseari. (*)

Riassunto. — L'A. dopo avere messo in rilievo l'importanza del latte quale alimento e quale materia prima per la preparazione dei prodotti lattiero-caseari, passa a considerare i metodi di analisi in uso per la determinazione di alcuni componenti sia del latte liquido normale sia dei prodotti da esso derivati. Premesso che una tecnica lunga e laboriosa per l'applicazione di un metodo è sempre fonte di possibilità di errori, ritiene che nella scelta di un metodo si debba tenere presente un punto di vista pratico piuttosto che teorico e perciò raccomanda alla « Commissione internazionale per la standardizzazione dei metodi di analisi » di scegliere metodi che, per la loro semplicità di esecuzione, siano esenti, o per lo meno, riducano al minimo, la possibilità di errori materiali ed assicurino, così, la riproducibilità dei risultati.

Résumé. — L'auteur, après avoir souligné l'importance du lait comme aliment et comme matière première pour la préparation des produits laitiers-caséux, examine les méthodes d'analyse en usage pour la détermination de certains composés soit du lait liquide normal, soit des produits qui en dérivent. Vu qu'une technique longue et laborieuse pour l'application d'une méthode est toujours une source d'erreurs, il est d'avis que pour le choix d'une méthode il faille tenir compte du point de vue pratique, plutôt que de celui purement théorique et en conséquence il recommande à la « Commission internationale pour la standardisation des méthodes d'analyse » de choisir des méthodes qui, par leur simplicité d'exécution, soient exempts, ou tout au moins, réduisent au minimum, les possibilités d'erreurs matérielles et assurent, ainsi, que les résultats puissent être reproduits.

Summary. — After discussing the importance of milk and its use as a raw material for the preparation of milk products methods for the analysis and determination of various components of normal liquid milk and its derivated products commonly used are described.

Long and laborious techniques for the application of a method are generally found to be a source of possible error, and it is therefore advisable in the selection of a method to adopt a practical attitude rather than a theoretical one. The « International commission for the standardisation

(*) La presente memoria è stata pubblicata in « *Milchwissenschaft* », 11 : 321 (1956).

of methods of analysis » has thus been recommended to select methods which are simple in their execution, in order to reduce to a minimum the possibility of errors and at the same time assure the reproducibility of the results.

Zusammenfassung. — Der Verfasser hebt die Bedeutung der Milch als Nahrungsmittel und als Grundstoff für die Herstellung der Milch- und Käseprodukte hervor. Dann befasst er sich mit den Analysenmethoden zur Kontrolle einiger Bestandteile sowohl der gewöhnlichen flüssigen Milch als auch der Milchderivate. Da lange und umständliche Methoden stets Fehlerquellen enthalten, steht er auf dem Standpunkt, dass bei der Auswahl der Methoden der praktische Gesichtspunkt vor dem theoretischen berücksichtigt werden müsse, und er schlägt daher der « Internationalen Kommission für die Standardisierung der Analysenmethoden » vor, jene Verfahren zu wählen, die wegen ihrer Einfachheit die Möglichkeit von materiellen Fehlern vollständig ausschliessen oder zumindest auf ein Kleinstmass beschränken. Dadurch würden gleichbleibende Resultate garantiert.

Il gruppo degli alimenti per il quale è stato descritto il maggior numero di metodi d'analisi per la determinazione dei singoli elementi costituenti è forse quello del latte e dei suoi derivati. La vasta bibliografia al riguardo ne è la dimostrazione e la particolare attenzione di molti Autori verso questo gruppo di alimenti si spiega considerando la costituzione del latte, il quale può, senza alcun timore di sbagliare, essere ritenuto il « principe » degli alimenti in quanto esso, in un armonico complesso, contiene tutti gli elementi necessari alla nutrizione ed allo sviluppo della vita di ogni essere vivente.

Lipidi, protidi, glucidi, sali, vitamine, ormoni, fermenti, elementi oligo-dinamici sono egualmente distribuiti, parte disciolti parte emulsionati, in questo liquido, il quale rappresenta in molti Paesi, oltre che un diretto alimento, uno dei principali elementi, ed in alcuni di Essi il principale, su cui si basa l'economia agricola. Da esso, per la sua complessa costituzione, deriva quella vasta serie di prodotti lattiero-caseari, la cui qualità è collegata a quella del latte impiegato. Perciò il latte, sia che venga destinato al consumo diretto sia che venga utilizzato per la preparazione di altri alimenti o di prodotti industriali, deve corrispondere a determinati requisiti, che debbono essere rigorosamente accertati. Per quanto riguarda il latte destinato al consumo diretto i requisiti cui esso

deve corrispondere sono prevalentemente d'indole igienico-sanitaria e debbono essere tali da dimostrarne la genuinità e la salubrità. Così, oltre a non contenere una carica batterica eccessiva, essere esente da germi patogeni, da sostanze tossiche o nocive e da ogni altra sostanza estranea, esso deve possedere determinate caratteristiche chimiche e fisiche corrispondenti a quelle che in ogni Paese vengono stabilite, deducendole dalla media di quelle presentate dal latte genuino prodotto nelle varie zone del Paese stesso. Queste caratteristiche, come tutte quelle che si riferiscono a prodotti naturali, non possono essere delle cifre assolute, bensì rappresentano dei minimi e dei limiti entro i quali debbono rientrare quelle del prodotto in esame per essere considerato genuino o per lo meno rispondere a quello che le disposizioni legislative al riguardo considerano come atto all'alimentazione. Le caratteristiche più importanti sono quelle che riguardano il contenuto in grasso e la quantità di residuo magro secco, che rappresentano il complesso delle sostanze nutritive contenute in un latte.

Molti sono i metodi, unitamente ai relativi perfezionamenti e modifiche, che si trovano descritti in letteratura per la determinazione della quantità di grasso.

Recentemente la « Commissione internazionale per la standardizzazione di metodi di analisi del latte e dei prodotti di latteria » in seno alla F.I.L. ⁽¹⁾ ha stabilito che, come metodo « standard » internazionale venga adottato quello studiato da RÖSE nel 1888 ⁽²⁾ e modificato da GOTTLIEB nel 1892 ⁽³⁾. La descrizione della tecnica è molto accurata e perfezionata in quanto ad essa sono stati apportati dei ritocchi che sono il frutto dell'esperienza. Il lavoro eseguito dalla Commissione è molto pregevole perchè ha tenuto conto di ogni particolare, dando così la possibilità a tutti gli analisti di poterlo usare con sicurezza e con fiducia sulla precisione dei risultati e sulla loro riproducibilità.

Credo che tutti dobbiamo essere riconoscenti ai componenti della Commissione per il non indifferente lavoro compiuto.

Senza dubbio il metodo di « RÖSE-GOTTLIEB » è uno dei migliori descritti in letteratura ed, anzi, può essere considerato l'« Optimum », però, secondo il mio modesto parere, esso è molto delicato, non scevro da cause di errori e laborioso. Esso può essere usato per scopi scientifici o per determinazioni di grande precisione. Infatti, ritengo, che non possa, sia per il tempo necessario per l'esecuzione sia per la delicatezza delle operazioni, essere applicato a controlli in serie, come avviene nei centri di raccolta e negli stabilimenti di trasformazione e di risanamento di questo prodotto, dove è necessario, in brevissimo tempo, in base al contenuto in grasso, classificarlo e fissarne il relativo prezzo. Anche gli analisti dei

laboratori d'analisi preposti alla repressione delle frodi, dove campioni di latte arrivano ogni giorno a decine, hanno bisogno di avere a loro disposizione un metodo rapido e che dia risultati attendibili in modo da potere trarre dalla massa, quei campioni per i quali non si può dare un giudizio sicuro perchè al limite dei requisiti stabiliti dalle disposizioni regolamentari al riguardo e sopra i quali debbono concentrare la loro attenzione. Sarebbe, perciò, opportuno che in sede internazionale venisse standardizzato un metodo a rapida esecuzione, come quello di GERBER, in uso già da più di cinquanta anni. Questo metodo, per quanto criticato e modificato per essere usato anche per gli altri prodotti lattiero-caseari, dà risultati abbastanza precisi e perfettamente riproducibili. Per il latte liquido normale, e specialmente per quello destinato al consumo diretto, conoscere esattamente la prima cifra decimale è più che sufficiente. Per quanto la sua manualità sia molto semplice sarebbe bene standardizzarla esattamente nei riguardi della quantità di alcool amilico da aggiungere e del modo di riempimento del lattobutirrometro. Per questo apparecchio dovrebbero essere date speciali norme per la sua costruzione, onde evitare errori dovuti alla sua taratura.

L'importanza del residuo magro secco in un latte liquido normale deriva dal fatto che la legislazione di parecchi Paesi fissa un contenuto minimo al disotto del quale un latte si deve considerare aggiunto di acqua. Non si ritiene che questo dato possa essere preso, a meno che esso sia molto basso, come base per un giudizio ⁽⁴⁾, in quanto esso può venire ad abbassarsi per fattori indipendenti dal volere dell'uomo, come quantità di latte prodotto dall'animale, età, periodo di lattazione, razza, fasi della vita sessuale, ambiente, modo di mungitura, regime alimentare ed altro. Pertanto, questo dato, pur rappresentando la quantità di sostanze nutritive non grasse contenute, può avere solamente un valore indicativo per quanto riguarda l'aggiunta di acqua. Per questa indagine sono descritti in letteratura parecchi metodi: la determinazione del punto crioscopico, quella della densità del siero, quella del grado rifrattometrico del siero, il calcolo della costante siero-densimetrica (C.D.S.), quello della costante molecolare semplificata (C.M.S.) e molti altri. I più comunemente usati sono il punto crioscopico e la densità del siero acetico. I dati che si ottengono da ambedue queste determinazioni non sono particolarmente influenzate dalle condizioni di vita in cui può trovarsi l'animale e specialmente in un latte di massa, molto raramente, si allontanano dalle cifre che la letteratura ammette per il latte genuino. A meno che la diluizione venga eseguita con liquidi diversi dall'acqua, queste due determinazioni riescono a mettere in evidenza anche piccole aggiunte di acqua. Poichè varie tecniche di esecuzione vengono descritte, sarebbe opportu-

no che la « Commissione internazionale per la standardizzazione dei metodi d'analisi » portasse su di esse la sua attenzione e le uniformasse in modo che ogni sperimentatore possa usare le stesse.

Rapidamente, così, accennato ai principali requisiti del latte liquido normale ed ai metodi più in uso per determinarli, desidero prendere in considerazione i prodotti di più largo consumo, e, perciò, di scambio, che da esso derivano e precisamente: formaggio, burro e latte in polvere.

Per il formaggio la principale caratteristica è il suo contenuto in sostanza grassa: infatti in base a tale contenuto si distinguono tre categorie: formaggio grasso, semigrasso e magro. A loro volta queste categorie si suddividono in molti tipi a secondo della varietà della pasta, del sistema di preparazione ed altro.

Anche la determinazione del grasso in questo prodotto è stato oggetto di studio da parte di molti Autori e la copiosa letteratura al riguardo illustra i pregi ed i difetti di ciascun metodo proposto. In generale i metodi, salvo quelli basati sull'estrazione diretta a mezzo di solventi previo essiccamento in stufa in presenza o no di sabbia calcinata, sono gli stessi di quelli descritti per il latte liquido normale con speciali adattamenti per il formaggio.

Ultimamente, dopo la riunione tenutasi a Bonn nel settembre ultimo scorso, la « Commissione Internazionale per la standardizzazione dei metodi d'analisi », in ottemperanza a quanto deliberato nella riunione dalla Conferenza Internazionale per l'unificazione dei metodi d'analisi del formaggio, che ebbe luogo a Roma nell'aprile 1934, ha stabilito la tecnica da seguire per l'applicazione del metodo SCHMID-BONDZYSKY-RATZLAFF ⁽⁵⁾.

L'elaborazione, che è il frutto di un laborioso lavoro di indagine eseguito dai vari membri della Commissione, si può dire perfetta e particolareggiata. Essa, infatti, tiene conto non solo della modifica al metodo primitivo proposta da FOUASSIER ⁽¹⁶⁾, e cioè di solubilizzare a caldo con acido cloridrico le sostanze proteiche del formaggio nello stesso tubo di estrazione, evitando così un pericoloso passaggio della soluzione acida dal recipiente di attacco a quello di estrazione, ma anche di tutti gli accorgimenti e perfezionamenti analitici suggeriti dalla pratica attuazione. Però a questo metodo, ritengo, si debbano fare le stesse obiezioni esposte per quello di RÖSE-GOTTLIEB per il latte liquido normale. Come in quest'ultimo, si corre sempre l'alea di perdere qualche goccia di soluzione eterea durante il passaggio di questa dal tubo di estrazione al recipiente di raccolta o, viceversa, di farvi arrivare qualche goccia di liquido acido. Per quanto i tempi di sedimentazione vengano rigorosamente rispettati, ed anzi protratti, la soluzione eterea, benchè perfettamente limpida rimane sempre impura di soluzione acida. La proposta di centrifugare la miscela

solvente-soluzione acida per avere una più netta separazione offre molte possibilità di errori, sia per il passaggio dal tubo di estrazione in quello da centrifuga sia per l'evaporazione del solvente durante la centrifugazione sia infine per tante altre cause imprevedibili che possono emergere nel condurre simile delicata operazione. Il fatto che nella maggior parte delle volte si abbia un grasso di colore giallo-marrone più o meno intenso sta a dimostrare che esso o è inquinato da altre sostanze oppure che in seno ad esso, senza arrivare alle ammissioni di alcuni Autori, siano avvenute delle trasformazioni di non indifferente entità. Un grasso in tali condizioni non è idoneo alle determinazioni che spesso su di esso si devono condurre per stabilirne la natura

Per le ragioni esposte vengono preferiti altri metodi, specialmente quelli, così detti, volumetrici che, pur non essendo di grande precisione come lo S.B.R., conducono a dati soddisfacenti e riproducibili, in molto minore tempo e senza lunga manualità

In Italia si va sempre più diffondendo l'uso di un metodo basato sull'estrazione diretta con solventi operata sul formaggio tal-quale in presenza di solfato anidro di sodio (⁷). La sua manualità è molto semplice, riducendo così, al minimo la possibilità di errori. Il formaggio, grattugiato se di pasta dura oppure spezzettato minutamente se di pasta molle o semimolle, viene impastato con una congrua quantità di solfato sodico anidro e quindi, dopo un certo periodo di tempo di contatto, sottoposto ad estrazione con solvente, in un comune idoneo apparecchio. Dopo cinque o sei ore l'estrazione è completa e, quello che è più importante, si ottiene un grasso di colore giallo-pallido naturale perfettamente idoneo per le ricerche e determinazioni di identificazione. Il metodo viene applicato a tutti i prodotti lattiero-caseari, compresi i formaggi fusi, ed a prodotti contenenti zucchero.

Per quanto nell'analisi di un burro la determinazione del grasso abbia un'importanza relativa, perchè ciò che più interessa è lo stabilire la sua natura, purtuttavia in letteratura sono descritti metodi ponderali lunghi e laboriosi e metodi rapidi, chiamati anche commerciali.

Al primo gruppo appartengono, unitamente a tutti i metodi impiegati per il latte liquido normale e modificati in modo da potere essere usati per il burro, quelli per estrazione diretta con solventi sia previo essiccamento in stufa a 100-103° C con aggiunta o no di sabbia, sia per semplice mescolamento del prodotto tal quale con solfato di sodio anidro. Al secondo gruppo appartengono, invece, quei metodi tipo Gerber, modificati per il burro, ma con questi metodi si è osservato che si ottengono dei dati molto superiori a quelli accertati con i metodi ponderali. Inol-

tre viene anche applicato un metodo indiretto prendendo, cioè, per sostanza grassa la differenza fra cento e la somma acqua più non grasso.

Come ho detto innanzi, data la facilità con la quale si può preparare un burro mescolando e sostituendo il grasso derivato dal latte con altri grassi, ritengo che sia più necessario fissare con precisione la tecnica dei vari metodi alla cui applicazione si ricorre per identificare la natura del grasso.

Infatti, oltre ai metodi già in uso da parecchie decine di anni, come la determinazione della quantità degli acidi volatili solubili ed insolubili, il numero di iodio ed altri, le cui tecniche sono già state particolareggiatamente fissate dalla « Commissione della Divisione Sostanze grasse » in seno alla Sezione di chimica Applicata dell'Unione internazionale di Chimica pura ed applicata (I.U.P.A.C.) ⁽⁸⁾, si sono in questi anni applicati metodi pubblicati in passato, ma non normalmente usati nella comune pratica, sia nel loro testo originale sia apportandovi modifiche, ed altri che rappresentano gli studi impostati e compiuti nell'intento di giungere a svelare l'aggiunta di grassi estranei, specialmente quando la confezione del burro è stata condotta con grande accorgimento in modo che esso presenti degli indici analitici compresi in quelli medi ammessi per il prodotto genuino.

Però questi metodi, i quali, molte volte, risolvono o contribuiscono a risolvere questo problema, oppure non servono affatto a risolverlo ed anche possono portare a risultati del tutto errati, rimangono quasi ignorati dalla grande schiera degli analisti, alla quale spetta il compito di emettere un giudizio sulla loro attendibilità e sulla possibilità della loro applicazione. Sarebbe, perciò, opportuno che a ciascun metodo, accuratamente e dettagliatamente descritto, fosse data la maggiore diffusione possibile affinché venga a conoscenza di tutti e sottoposto, così, all'utile e necessaria critica.

E' in atto da parte della Commissione internazionale per la standardizzazione di metodi d'analisi per il latte in polvere un'inchiesta, che forse si concluderà nella riunione di Roma del prossimo settembre, per scegliere il metodo « standard » per la determinazione del contenuto in acqua e per quella del grasso nel latte in polvere sia intero che scremato. Fra i metodi messi allo studio per la determinazione dell'acqua vi è quello di KARL FISCHER. Questo metodo, oltre a richiedere un'attrezzatura speciale, non sembra rispondere allo scopo. Infatti con l'impiego di esso si determina tutta l'acqua presente in un prodotto e, perciò, in questo caso, anche quella di cristallizzazione del lattosio, il quale a seconda del metodo e delle modalità seguite nella preparazione del latte in polvere può sussistere in esso sotto la forma α e sotto la forma β o

tre viene anche applicato un metodo indiretto prendendo, cioè, per sostanza grassa la differenza fra cento e la somma acqua più non grasso.

Come ho detto innanzi, data la facilità con la quale si può preparare un burro mescolando e sostituendo il grasso derivato dal latte con altri grassi, ritengo che sia più necessario fissare con precisione la tecnica dei vari metodi alla cui applicazione si ricorre per identificare la natura del grasso.

Infatti, oltre ai metodi già in uso da parecchie decine di anni, come la determinazione della quantità degli acidi volatili solubili ed insolubili, il numero di iodio ed altri, le cui tecniche sono già state particolarmente fissate dalla « Commissione della Divisione Sostanze grasse » in seno alla Sezione di chimica Applicata dell'Unione internazionale di Chimica pura ed applicata (I.U.P.A.C.) (⁸), si sono in questi anni applicati metodi pubblicati in passato, ma non normalmente usati nella comune pratica, sia nel loro testo originale sia apportandovi modifiche, ed altri che rappresentano gli studi impostati e compiuti nell'intento di giungere a svelare l'aggiunta di grassi estranei, specialmente quando la confezione del burro è stata condotta con grande accorgimento in modo che esso presenti degli indici analitici compresi in quelli medi ammessi per il prodotto genuino.

Però questi metodi, i quali, molte volte, risolvono o contribuiscono a risolvere questo problema, oppure non servono affatto a risolverlo ed anche possono portare a risultati del tutto errati, rimangono quasi ignorati dalla grande schiera degli analisti, alla quale spetta il compito di emettere un giudizio sulla loro attendibilità e sulla possibilità della loro applicazione. Sarebbe, perciò, opportuno che a ciascun metodo, accuratamente e dettagliatamente descritto, fosse data la maggiore diffusione possibile affinché venga a conoscenza di tutti e sottoposto, così, all'utile e necessaria critica.

E' in atto da parte della Commissione internazionale per la standardizzazione di metodi d'analisi per il latte in polvere un'inchiesta, che forse si concluderà nella riunione di Roma del prossimo settembre, per scegliere il metodo « standard » per la determinazione del contenuto in acqua e per quella del grasso nel latte in polvere sia intero che scremato. Fra i metodi messi allo studio per la determinazione dell'acqua vi è quello di KARL FISCHER. Questo metodo, oltre a richiedere un'attrezzatura speciale, non sembra rispondere allo scopo. Infatti con l'impiego di esso si determina tutta l'acqua presente in un prodotto e, perciò, in questo caso, anche quella di cristallizzazione del lattosio, il quale a seconda del metodo e delle modalità seguite nella preparazione del latte in polvere può sussistere in esso sotto la forma α e sotto la forma β o

sotto ambedue le forme. I dati ottenuti con questo metodo sono sempre risultati superiori a quelli ottenuti applicando metodi alla stufa. Anche per questi ultimi si dovrà scegliere quello con il quale si determina solamente l'acqua, per così dire « libera », evitando, cioè, quelli che, per prolungato riscaldamento a temperatura superiore ai 100° C, possano far perdere al lattosio tutta o parte della sua acqua di cristallizzazione o ne provochino una leggera caramellizzazione.

Nel resoconto della « Commissione per la standardizzazione dei metodi d'analisi del latte in polvere ⁽⁹⁾ », tenutasi a Bonn il 13-9-1955, si riporta che i dati analitici di un latte in polvere debbono essere riferiti al prodotto tal quale. Ciò risponde pienamente per i prodotti confezionati in scatole di metallo ermeticamente chiuse, ma non può rispondere per quelli in fusti o sacchi, e, cioè, in involucri non perfettamente idonei a preservarli dall'influenza dell'umidità dell'ambiente, destinati all'industria per la confezione di altri alimenti od all'alimentazione del bestiame. Il latte in polvere, come tutte le sostanze allo stato secco, ha tendenza ad assorbire umidità dall'ambiente e, secondo F. RICHARD ⁽¹⁰⁾ esso può arrivare ad avere un contenuto massimo in acqua dell'8% senza presentare sensibili alterazioni nel suo aspetto.

Per quanto riguarda la determinazione del grasso oltre al metodo di RÖSE-GOTTLIEB, adattato per il latte in polvere, ne sono stati presi in esame uno per estrazione diretta con cloroformio, previo inumidimento con alcool a 95° e successiva eliminazione in stufa dell'alcool aggiunto, ed un altro, simile a quello di RÖSE-GOTTLIEB, il cui testo è riportato nell'allegato A della II^a parte della « Conferenza diplomatica internazionale sul latte in polvere » ⁽¹¹⁾.

A quest'ultimo si possono fare le stesse osservazioni per la complicata manualità richiesta che porta, quasi sempre, di conseguenza possibilità di errori.

A questo proposito la Commissione Italiana non ha mai mancato di raccomandare nei suoi rapporti alla Commissione Internazionale di scegliere metodi semplici perchè, secondo il suo avviso, la semplicità della tecnica di un metodo è una delle principali condizioni necessarie per ottenere dati analitici riproducibili.

In altre parole per la scelta di un metodo è meglio attenersi ad un punto di vista pratico piuttosto che teorico lasciando che metodi d'indagine laboriosi e complicati vengano usati per ricerche scientifiche e per determinazioni di grande precisione, ciò che esula dai prodotti presi in esame.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) F. I. L. - Documento francese, 24: (1956).
 - (²) RÖSE B. - J. d'indust. Laitière, pag. 457 (1888).
 - (³) GOTTLIEB - Die Landwirts. Versuchsstationen, 40: 1 (1892).
 - (⁴) ANSELMi S. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 3: 847 (1940).
 - (⁵) F. I. L. - Documento francese, 26: (1956).
 - (⁶) FOUASSIER - Ann. Fals., 32: 131 (1939).
 - (⁷) ANSELMi S. e CESARI A. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 13: 689 (1950).
 - (⁸) U.I.C.P.A.: « Analyse des matières grasses ». - 4^a Ed. pag. 64, Parigi, 1954.
(I.U.P.A.C. Analysis oils a. facts).
 - (⁹) F. I. L. - Documento francese, 8: (1953).
 - (¹⁰) RICHARD F. - Chem. Centr., 2520: 1 (1926); Chimie Industrie, 6: 302 (1926).
 - (¹¹) F. I. L. - Documento francese, 12: (1953).
-