

## LATTE: ANALISI FISICO CHIMICHE

Le analisi chimico-fisiche del latte consentono di:

1. Determinare il valore commerciale dei prodotti in relazione alla misura dei loro componenti più essenziali;
2. Regolare le lavorazioni secondo la tecnologia più razionale al fine di garantire le maggiori rese, assicurare l'uniformità della produzione, aumentare lo stato di conservazione dei prodotti, ecc.;
3. Combattere le possibili adulterazioni e sofisticazioni.

Le più comuni **analisi chimico – fisiche** sono le seguenti:

1. **DETERMINAZIONE DEL PESO SPECIFICO DEL LATTE E DEL SIERO (LATTODENSIMETRO DI QUEVENNE)**
2. **DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA GRASSA (METODO GERBER)**
3. **DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA SECCA (METODO DIRETTO FIL – IDF21: 1962 e METODO INDIRECTO) E DEL TENORE IN MATERIA SECCA MAGRA**
4. **DETERMINAZIONE DEL TENORE DI PROTEINE TOTALI E DI CASEINA (METODO STEINEGGER)**
5. **DETERMINAZIONE DEL TENORE IN LATTOSIO (METODO FEHLING)**
6. **DETERMINAZIONE DEL pH**
7. **DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA'**
8. **DETERMINAZIONE DELL'INDICE CRIOSCOPICO (PUNTO DI CONGELAMENTO)**

### **DETERMINAZIONE DEL PESO SPECIFICO**

#### **a. DETERMINAZIONE DEL PESO SPECIFICO DEL LATTE**

Il peso specifico del latte a 15°C deve avere valori compresi fra **1,029 e 1,034 g/ ml**.

Tali valori risultano superiori in caso di latte scremato, inferiori in caso di latte annacquato. Per altro se la scrematura e l'annacquamento vengono effettuati sullo stesso prodotto, nell'ambito di un 10%, non si verificano variazioni del peso specifico. In tale circostanza sono le analisi del peso specifico del siero, della % di materia grassa e dell'indice crioscopico a rivelare la sofisticazione.

Per la determinazione si utilizza uno speciale areometro, il LATTODENSIMETRO DI QUEVENNE, un'asta di vetro contenente ad un'estremità della zavorra ed all'altra estremità una scala graduata in 29 tacche, comprese tra 14 e 42: le due cifre indicano la seconda e la terza decimale, quindi si deve anteporre ad esse 1,0. Lo strumento incorpora un termometro ed è tarato a 15°C.

#### **PRINCIPIO DEL METODO**

Il peso specifico del latte è in relazione sia alle sostanze in soluzione ed in sospensione (acqua e residuo magro) sia alle sostanze in emulsione (grassi). La determinazione è basata sul Principio di Archimede: un corpo galleggiante (areometro) si immerge nel latte fino a quando il peso del liquido spostato equivale al peso dell'areometro.

## APPARECCHIATURA

- ◆Lattodensimetro di Quevenne
- ◆Cilindro da 300 ml

## PROCEDIMENTO

- ◆Mescolare il latte per renderlo omogeneo capovolgendo o agitando il contenitore
- ◆Versarlo lungo le pareti del cilindro fino a circa 10 cm dal bordo, evitando la formazione di schiuma
- ◆Introdurre con cautela il lattodensimetro, senza farlo aderire alle pareti
- ◆Dopo circa 1 minuto leggere il numero che risulta all'affioramento dell'asta graduata del lattodensimetro (se si legge per esempio 31, significa che il peso specifico del latte è 1,031)
- ◆Leggere la temperatura del latte sul termometro incorporato: se questa è diversa da 15°C, ma comunque compresa tra 10 e 20 °C, **occorre effettuare un calcolo correttivo che consiste nell'aggiungere o togliere al valore letto 0,0002 per ogni grado di temperatura rispettivamente superiore o inferiore a 15°C.**

CALCOLO CORRETTIVO :  $ps_{15^{\circ}C} = ps_t + 0,0002 ( t - 15 )$

### a. DETERMINAZIONE DEL PESO SPECIFICO DEL SIERO

Il peso specifico del siero del latte a 15°C deve avere valori compresi fra **1,026 e 1,028 g/ml**.

Il peso specifico del siero, non contenendo quest'ultimo proteine e grassi, allontanati dal latte tramite coagulazione, può variare entro limiti più ristretti.

## APPARECCHIATURA

- ◆Lattodensimetro di Quevenne
- ◆Filtro
- ◆Imbuto
- ◆Becher
- ◆Cilindro da 300 ml
- ◆Pipetta da 2 ml

## REAGENTI

Soluzione di cloruro di calcio  $CaCl_2$  con densità 1,1375 a 15 °C (preparata sciogliendo 20 g di cloruro di calcio in 100 ml di acqua)

## PROCEDIMENTO

### PREPARAZIONE DEL SIERO SECONDO ACKERMANN

- ◆Introdurre nel cilindro 240 ml di latte e 2 ml di soluzione di cloruro di calcio
- ◆Scaldare il tutto a bagnomaria bollente per 15 minuti con lo scopo di far coagulare la caseina
- ◆Raffreddare e filtrare con filtro a pieghe per separare la caseina ed ottenere il siero

limpido

- ◆ Determinare il peso specifico come per il latte utilizzando il lattodensimetro. La temperatura di riferimento è sempre 15°C. Analogò è il calcolo per la correzione della temperatura.

Il siero può essere preparato anche facendo coagulare 200 – 250 ml di latte con 3 – 4 ml di acido acetico al 20% ( $d = 1,028$ ) e poi riscaldando a 45°C per 10 minuti.

In questo caso il **peso specifico può arrivare a 1,029 g/ ml** .



Foto n°20: *Preparazione del siero*

## **DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA GRASSA (METODO GERBER)**

Il tenore in materia grassa del latte può variare tra **il 3 e il 4,5 %**

**Il latte intero deve avere un tenore di grasso  $\geq 3,2$  %**

**Il latte parzialmente scremato deve avere un tenore di grasso compreso tra 1,5 e 1,8 %**

**Il latte scremato deve avere un tenore di grasso  $< 0,5$  % (0,3% - D.M. 11/10/ 85)**

I valori letti al butirrometro di Gerber sono di attendibilità pari a quelli ottenuti con il metodo di riferimento Rose –Gottlieb .

### **PRINCIPIO DEL METODO**

L'acido solforico  $H_2SO_4$  e l'alcol amilico  $C_5H_{11}OH$  sono in grado di sciogliere tutti i componenti del latte ad eccezione dei grassi, che possono essere separati per

centrifugazione. L'alcol amilico in particolare ha il compito di estrarre la materia grassa impedendone la carbonizzazione.

## APPARECCHIATURA

- ◆Butirrometro di Gerber
- ◆Tappo FIBU con spingitappo
- ◆Centrifuga
- ◆Pipette tarate da 1 ml e 10 ml
- ◆bagnomaria

## REAGENTI

- ◆Acido solforico di densità  $1,820 \div 1,825$  (preparato addizionando a 0,9 volumi di acqua 9,1 volumi di acido solforico concentrato densità  $1,83 \text{ g/ml}$  )
- ◆alcol amilico di densità  $0,815$  e p.e.  $128 \div 130 \text{ }^\circ\text{C}$

## PROCEDIMENTO

- ◆nel butirrometro pulito ed asciutto introdurre nell'ordine : 10 ml di acido solforico, 11 ml di latte a temperatura ambiente (omogeneizzato per travaso da un becher ad un altro mediante scorrimento lungo le pareti per evitare la formazione di schiuma ) fatti defluire lentamente lungo le pareti in modo da sovrapporre il latte all'acido con un minimo di mescolamento, evitando di bagnare la zona in prossimità del tappo, e da ultimo 1 ml di alcol amilico
- ◆chiudere subito il butirrometro con il tappo FIBU (aiutandosi con lo spingitappo), avvolgerlo eventualmente in un panno ( avviene una reazione fortemente esotermica ), capovolgerlo ripetutamente fino allo scioglimento del coagulo formatosi e quindi immergerlo (con il tappo rivolto verso il basso) in un bagnomaria a  $65 \div 70 \text{ }^\circ\text{C}$  per 10 minuti circa
- ◆tolto dal bagnomaria il butirrometro viene posto nell'apposita centrifuga con il tappo verso l'esterno a 1000 giri al minuto per circa 5 minuti (conviene operare su due campioni uguali sistemati nella centrifuga in posizione diametralmente opposta allo scopo di bilanciarla)
- ◆riportare il butirrometro col tappo verso il basso nel bagnomaria per  $3 \div 4$  minuti a  $60 \div 70 \text{ }^\circ\text{C}$ . Nel butirrometro si osservano 3 strati:
  - a. in mezzo uno strato rosso scuro o talvolta violaceo composto dalle sostanze organiche demolite dall'acido solforico
  - b. sopra uno strato oleoso trasparente di colore giallastro composto dalla sostanza grassa
  - c. sul fondo uno strato sottile biancastro composto da sali minerali e sostanze insolubili
- ◆togliere il butirrometro dal bagnomaria , agire rapidamente (\*) sul tappo con lo spingitappo facendo pressione e depressione per far coincidere con lo zero della scala graduata (da 0 a 7 con divisioni in decimi) la linea di separazione degli strati rosso scuro e giallastro in modo da leggere la **% m/v di materia grassa**.

(\*) eseguire la lettura entro 20 secondi perché la temperatura dell'ambiente raffredda con rapidità il butirrometro determinando una restrizione della colonna di grasso: l'errore di questo raffreddamento è di circa 0,01% per ogni 5 °C.

## OSSERVAZIONI

- ◆ pulire il butirrometro quando è ancora caldo immergendolo varie volte in acqua calda e poi nella soda
- ◆ i tappi vanno lavati con soda tiepida e poi sciacquati con acqua fredda
- ◆ le pipette sono tarate a 20°C; è quindi necessario che al momento del prelievo anche il latte abbia la temperatura di 20°C
- ◆ la densità dell'acido solforico deve essere costante e deve essere conservato in contenitori a chiusura perfetta poiché, essendo molto igroscopico, assorbe umidità dall'atmosfera e si diluisce: una densità minore fornisce percentuali di grasso superiori, mentre una densità maggiore non altera i risultati, ma colora la materia grassa rendendo la lettura più difficile.



Foto n°21 : *Metodo Gerber* (per gentile concessione dell'azienda "Berglandmich" di Klagenfurt)

## **DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA SECCA (METODO DIRETTO FIL – IDF21: 1962 e METODO INDIRETTO) E DEL TENORE IN MATERIA SECCA MAGRA**

- a. DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA SECCA (RESIDUO SECCO) – METODO DIRETTO FIL –IDF 21: 1962

Il valore del tenore in materia secca deve essere pari **al 12 – 13 %**.

La materia secca del latte è la sostanza che resta alla fine del processo di essiccazione espressa in % in massa (% m/m).

La determinazione della materia secca consente di avere indicazioni sull'annacquamento o sulla scrematura del latte: entrambe le operazioni comportano una sua diminuzione.

## PRINCIPIO DEL METODO

L'analisi comporta la determinazione dell'umidità del latte mediante evaporazione in stufa.

## APPARECCHIATURA

- ◆ Bilancia analitica
- ◆ Essiccatore munito di un essiccante quale gel di silice addizionato di un indicatore di umidità
- ◆ Stufa termostata a  $102 \pm 2$  °C
- ◆ Capsule di porcellana a fondo piatto, alte  $20 \div 25$  mm, di diametro  $50 \div 75$  mm, complete di coperchio a tenuta
- ◆ Bagnomaria bollente

## PROCEDIMENTO

### PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Portare il latte a  $20 \div 25$ °C, mescolarlo accuratamente in modo da avere una distribuzione omogenea del grasso evitando la sua separazione o la formazione di schiuma.

- ◆ Riscaldare la capsula vuota con il coperchio accanto nella stufa a 104 °C per almeno 30 minuti. Porre il coperchio sulla capsula e trasferirla immediatamente nell'essiccatore. Lasciar raffreddare a temperatura ambiente per almeno 30 minuti e pesarla con la precisione di 0,1 mg
- ◆ Pesare quindi nella capsula, con la precisione di 0,1 mg, 5 g (oppure 10 g) di latte
- ◆ Riscaldare la capsula con il latte per 30 minuti nel bagnomaria bollente
- ◆ Riscaldare la capsula con accanto il coperchio nella stufa a 104 °C per 2 ore
- ◆ Rimettere il coperchio, togliere la capsula dalla stufa e rimetterla nell'essiccatore per altri 30 minuti e quindi pesare con la precisione di 0,1 mg
- ◆ Riscaldare la capsula con accanto il coperchio nella stufa a 104 °C per 1 ora
- ◆ Rimettere il coperchio, togliere la capsula dalla stufa e rimetterla nell'essiccatore per altri 30 minuti e quindi pesare con la precisione di 0,1 mg
- ◆ Ripetere le operazioni di riscaldamento, essiccazione e pesata finché la differenza tra due pesate successive sia pari o inferiore a 0,5 mg. Registrare il più basso valore di massa trovato.

## CALCOLI

Il contenuto in materia secca **T** è espresso dalla relazione:

$$M_2 - M_0$$

$$T = \text{-----} \times 100$$

$$M_1 - M_0$$

T = contenuto in materia secca espresso in % m/m

M<sub>0</sub> = massa in g della capsula e del coperchio

M<sub>1</sub> = massa in g della capsula, del coperchio e del campione umido (latte)

M<sub>2</sub> = massa in g della capsula, del coperchio e del campione essiccato.

Annotare il valore ottenuto a meno dello 0,01 % m/m.

Ripetibilità r: 0,10 % m/m

**Riproducibilità R: 0,20 % m/m**

**b) DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA SECCA (RESIDUOSECCO)  
– METODO INDIRECTO**

Il tenore in materia secca, una volta effettuate le determinazioni del peso specifico e del tenore in materia grassa, si può ricavare con la **FORMULA DI FLEISCHMANN:**

$$(100 \times ps - 100)$$

$$\% \text{ MATERIA SECCA} = 1,2 G + 2,665 \frac{\text{-----}}{ps}$$

**G = % m/ v in materia grassa**

**ps = peso specifico del latte a 15 °C**

TABELLA 14 - MATERIA SECCA IN RAPPORTO A MATERIA GRASSA E PESO SPECIFICO

% MATERIA GRASSA	% MATERIA SECCA ( RESIDUO SECCO )						
1	8,71	8,96	9,21	9,46	9,71	9,96	
1,8	9,67	9,92	10,17	10,42	10,67	10,92	
2,5	10,51	10,76	11,01	11,26	11,51	11,76	
3	11,11	11,36	11,61	11,86	12,23	12,49	
3,3	11,47	11,72	11,97	12,22	12,47	12,73	
3,4	11,59	11,84	12,09	12,34	12,59	12,85	
3,5	11,71	11,96	12,21	12,46	12,71	12,97	
3,6	11,83	12,08	12,23	12,58	12,83	13,09	
3,7	11,95	12,2	12,45	12,7	12,95	13,21	
3,8	12,07	12,32	12,57	12,82	13,07	13,33	
3,9	12,19	12,44	12,69	12,94	13,19	13,45	
4	12,31	12,56	12,81	13,06	13,31	13,57	
PESO SPECIFICO A 15°C	1,029	1,03	1,031	1,032	1,033	1,034	

N.B.: I valori in azzurro sono anomali anche rispetto al tenore in materia secca magra

### c) DETERMINAZIONE DEL TENORE IN MATERIA SECCA MAGRA (RESIDUO SECCO MAGRO)

Il tenore in materia secca magra (residuo secco magro) deve essere **non inferiore all'8,70 %** (se il tenore in materia grassa supera il 3,15 % deve essere non inferiore **all'8,50 %**).

Valori inferiori all'8,50 % rendono il latte sospetto di annacquamento: per tale motivo si determina l'indice crioscopico. Un elevato valore del tenore in materia secca magra indica un'elevata percentuale di sostanze proteiche e quindi una buona resa di trasformazione in formaggio.

Il tenore in materia secca magra è dato dall'insieme dei costituenti del latte escluso il grasso.

Viene determinato mediante **CALCOLO**:

$$\% \text{ MATERIA SECCA MAGRA} = \% \text{ MATERIA SECCA} - \% \text{ MATERIA GRASSA}$$

### DETERMINAZIONE DEL TENORE DI PROTEINE TOTALI E DI CASEINA (METODO STEINEGGER)

#### PRINCIPIO DEL METODO

Si tratta di un metodo volumetrico basato sulla reazione di Schiff tra i gruppi amminici liberi delle proteine e l'aldeide formica. I gruppi amminici delle proteine vengono bloccati dall'aldeide, lasciando liberi e quindi titolabili i gruppi carbossilici.



## REAGENTI

- ◆ Soluzione di aldeide formica al 40% (preparata di fresco) neutralizzata con idrossido di sodio NaOH 0,1 N in presenza di fenolftaleina
- ◆ Soluzione di idrossido di sodio NaOH 0,25 N
- ◆ Fenolftaleina (soluzione alcoolica all' 1%)

## APPARECCHIATURA

- ◆ Becher
- ◆ Pipette da 5 e da 50 ml

## PROCEDIMENTO

**L'analisi si effettua sul latte di cui si è già determinato l'acidità espressa in gradi ° SH.**

- ◆ Aggiungere a 50 ml di latte neutralizzato di colore rosa, 5 ml della soluzione di aldeide formica al 40% neutralizzata con idrossido di sodio NaOH 0,1 N in presenza di fenolftaleina
- ◆ Continuare la titolazione del latte, che con l'aggiunta di fenolftaleina è diventato nuovamente bianco (l'aldeide formica determina un aumento dell'acidità) con la soluzione di idrossido di sodio NaOH 0,25 N fino a riottenere il viraggio al rosa pallido persistente per almeno 30 secondi.

## CALCOLI

**TENORE IN PROTEINE TOTALI (% m/v) =  $a \times 2 \times 0,485$**

**a = ml di NaOH 0,25 N usati nella seconda titolazione**

**TENORE IN CASEINA (% m/v) =  $a \times 2 \times 0,375$**

**a = ml di NaOH 0,25 N usati nella seconda titolazione**

Sia nella determinazione dell'acidità (°SH), che in quella delle proteine si può operare direttamente su 100 ml di latte: in questo caso nel calcolo non si moltiplica per 2.

## DETERMINAZIONE DEL TENORE IN LATTOSIO (METODO FEHLING)

### REAGENTI

- ◆ Acido acetico glaciale
- ◆ Soluzioni A e B di Fehling
- ◆ Soluzione al blu di metilene

### APPARECCHIATURA

- ◆ palloni tarati da 100 ml e da 250 ml
- ◆ pipette da 10, 20 e 100 ml
- ◆ buretta da 50 ml
- ◆ bagnomaria
- ◆ bunsen, treppiede e reticella

## PROCEDIMENTO

- ◆ Pesare 20 g di latte in un pallone tarato da 100 ml, aggiungere 20 ml di acqua distillata e 3 o 4 gocce di acido acetico glaciale
- ◆ Tappare, agitare e porre a bagnomaria a 100°C per 10 minuti in modo da favorire la separazione delle proteine e della materia grassa dal siero contenente il lattosio
- ◆ Raffreddare a 15 °C e portare a 100 ml con acqua di stillata; agitare e filtrare raccogliendo il liquido (siero)
- ◆ Con il siero (diluito 1: 5) riempire la buretta
- ◆ In un pallone a fondo piano da 250 ml porre 5 ml di liquido di Fehling A, 5 ml di liquido di Fehling B, 40 ml di acqua distillata e un po' di pietra pomice
- ◆ Portare il tutto ad ebollizione vivace alla fiamma del bunsen. Raggiunta l'ebollizione si titola con il siero fino allo scoloramento del blu tipico del liquido di Fehling e la comparsa del colore rosso mattone (circa 6 – 6,5 ml di siero ) sempre all'ebollizione
- ◆ Lasciare bollire ancora 3 minuti, aggiungere 3 gocce di blu di metilene e far bollire per altri 6 minuti fino alla ricomparsa del colore rosso mattone.

## CALCOLI

La % m/ m di lattosio monoidrato è data dalla relazione:

$$0,0676 \times 100 \times 5$$

LATTOSIO MONOIDRATO (% m/m) = -----

A

**A = ml di siero impiegati nella titolazione**

**5 = numero di diluizioni effettuate**

**0,0676 = g di lattosio monoidrato necessari per ridurre 10 ml di liquido di Fehling.**



Foto n°22: *Ricerca del lattosio*

## DETERMINAZIONE DEL pH

Il pH di un latte normale fresco varia **fra 6,6 ÷ 6,7** .

Il pH evidenzia l'acidità "attuale" (stato di freschezza del latte), mentre l'acidità titolabile evidenzia l'acidità totale, in quanto tiene conto anche degli ioni idrogeno non dissociati.

Il pH ha influenza sulla coagulazione della caseina per la fabbricazione del formaggio e dello yogurt, nonché sulla rottura dei globuli di grasso per trasformare il latte in burro.

## REAGENTI

- ◆ Soluzione tampone a pH 7

## APPARECCHIATURA

- ◆ pH –metro

## PROCEDIMENTO

- ◆ dopo una preliminare taratura di controllo dell'elettrodo del pH – metro immergendolo in una soluzione tampone a pH noto, lavare ed asciugare con carta da filtro la membrana dell'elettrodo
- ◆ introdurre l'elettrodo nel latte, portando il correttore della temperatura alla temperatura della sostanza in esame

- ◆ attendere alcuni secondi per la compensazione della temperatura ed effettuare la lettura del pH
- ◆ provvedere alla pulizia della membrana eliminando i residui secchi con etere di petrolio e i residui di sostanze proteiche con una soluzione al 2% di citrato. Sciacquare con acqua distillata e lasciare l'elettrodo immerso nell'acqua distillata.

#### TABELLA 15- RELAZIONE TRA pH E STATO DI CONSERVAZIONE DEL LATTE

PH	STATO DI CONSERVAZIONE
6,7	latte normale
6,5	acidificazione incipiente
6,3	acidificazione leggera
6,1	acidificazione avanzata
5,9	acidificazione avanzata
5,7	acidificazione avanzata
5,2	latte acido
4,5	latte coagulato
7,1	latte patologico



Foto n°23: *Determinazione del pH automatico* (per gentile concessione dell'azienda "Berglandmilch di Klagenfurt")

## **DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA'**

L'acidità del latte normale fresco è di **7 + 8 °SH (SOXHLET – HENKEL)**

Il latte possiede una lieve acidità naturale, dovuta ad alcuni acidi organici (acido citrico) ed inorganici (acido carbonico) sia liberi sia legati alle micelle di caseina. Inoltre, subito dopo la mungitura, il latte tende ad acidificare per fermentazione del lattosio ad acido lattico ad opera dei batteri lattici.

L'acidità del latte si esprime in:

- a. GRADI SOXHLET- HENKEL (°SH) = ml di idrossido di sodio NaOH 0,25 N utilizzati per titolare 100 ml di latte.**
- b. % ACIDO LATTICO = g di acido lattico presenti in 100 ml di latte**

$$= \text{ml NaOH } 0,25 \text{ N} \times \frac{1}{4} \text{ eq/l} \times 90 \text{ eq/l} \times \frac{1}{1000} \text{ ml/l}$$

$$= \text{°SH} \times 0,0225$$

### REAGENTI

- ◆ soluzione di idrossido di sodio 0,25 N
- ◆ indicatore fenolftaleina

### APPARECCHIATURA

- ◆ buretta da 50 ml
- ◆ beuta da 100 ml
- ◆ pipetta da 50 ml

### PROCEDIMENTO

- ◆ prelevare 50 ml di latte ed introdurli nella beuta
- ◆ aggiungere 6 gocce di fenolftaleina e titolare con la soluzione di NaOH 0,25 N fino a colorazione rosea persistente (pH = 8,3)

Per cogliere esattamente il viraggio operare in ottime condizioni di luce e confrontare il risultato con il latte naturale.

### CALCOLI

$$\text{ACIDITA' IN GRADI SOXHLET – HENKEL (°SH)} = a \times 2$$

$$\text{ACIDITA' IN \% ACIDO LATTICO} = a \times 2 \times 0,0225$$

**a = ml di NaOH 0,25 N utilizzati nella titolazione**

**2 = per riferire il valore a 100 ml dal momento che per comodità si sono titolati 50 ml di latte**

### **TABELLA 16- RELAZIONE TRA ACIDITA' (°SH) E TIPO DI LATTE**

6 - 7	<b>Latte di cattiva coagulazione</b>
7 - 8	<b>Latte normale</b>
8 - 8,5	<b>Latte sub-acido (di difficile conservabilità)</b>
8,5 - 9	<b>Latte acido (di cattiva conservabilità)</b>
9 - 10	<b>Latte acido anche al sapore (coagula all'ebollizione)</b>
> 10	<b>Latte che coagula al calore</b>



Foto n°24: *Titolazione per determinare l'acidità* (per gentile concessione dell'Istituto per le tecnologie agroalimentari di Thiene)

## DETERMINAZIONE DELL'INDICE CRIOSCOPICO (PUNTO DI CONGELAMENTO)

latte normale fresco deve avere indice crioscopico inferiore a **- 0,520 °C** .

L'indice crioscopico può avere normali variazioni stagionale da - 0,530 °C a - 0,575 °C: l'abbassamento è più consistente nei mesi freddi, mentre l'aumento, più evidente nei mesi caldi, può essere dovuto ad un alto tenore in sali minerali della razione alimentare.

L'indice crioscopico è il parametro meno variabile del latte fresco e con la sua determinazione si riesce a stabilire se il latte è stato annacquato e, in caso affermativo, in che misura. L'aggiunta di acqua fa diminuire la concentrazione di sali e lattosio e quindi fa avvicinare a 0°C la temperatura di congelamento del latte.

Il latte proveniente da vacche ammalate ha un indice crioscopico compreso tra - 0,56°C ÷ + 0,610°C e nelle vacche affette da mastiti strepto cocchi che può arrivare a + 0,81°C.

La determinazione dell'indice crioscopico può essere effettuata su campioni di latte la cui acidità espressa in acido lattico **non risulti superiore a 0,18 g di acido lattico per 100 ml di latte (D.M. 26 marzo 1992).**

Si può effettuare la prova anche su latte acido detraendo dal risultato il valore 0,05 per ogni grammo di acidità, espressa in acido lattico, superiore a 1,2.

## REAGENTI

- ◆ Acqua bidistillata
- ◆ Miscela frigorifera preparata con 1 kg di ghiaccio tritato mescolato con 250 g di cloruro di sodio
- ◆ Alcool etilico

## APPARECCHIATURA

- ◆ Crioscopio di Beckmann

## PROCEDIMENTO

Azzeramento della scala del termometro del crioscopio mediante la determinazione del punto di congelamento dell'acqua:

- ◆ Mettere nel recipiente di vetro una miscela frigorifera avente la temperatura di  $-5^{\circ}\text{C}$  circa nella quale immergere il provettone contenente alcool etilico e la provetta crioscopica contenente il termometro. Attendere che il mercurio scenda a  $-5^{\circ}\text{C}$
- ◆ Introdurre nel tubo laterale della provetta crioscopica un volume di acqua bidistillata (50 ml) tale da ricoprire il bulbo del termometro
- ◆ Azionare l'agitatore (40 – 50 movimenti a minuto con ampiezza di 2 – 3 cm) ed attendere che il mercurio scenda a  $-2^{\circ}\text{C}$
- ◆ Spegnerne l'agitatore e, per il fenomeno della sopra fusione, il mercurio scenderà fino alla base della scala per poi risalire e fissarsi al punto di congelamento dell'acqua bidistillata
- ◆ Fissare l'indice del crioscopio in corrispondenza del punto di arresto del mercurio e spostare la scala in modo che lo zero coincida con l'indice stesso (termometri di Winter). La temperatura rimane costante durante il congelamento, si abbassa solo dopo che tutta l'acqua bidistillata si è completamente solidificata. La sopra fusione può essere evitata aggiungendo alla provetta un cristallo di ghiaccio che fa da germe di cristallizzazione.
- ◆ Sostituire nella provetta crioscopica l'acqua con il latte (50 ml) lavandola più volte con esso, chiuderla con il tappo munito di termometro ed inserirla nel bagno refrigerante
- ◆ Avviare l'agitatore e seguire la contrazione del mercurio che, dalla bolla di espansione, si ritira sotto lo zero (quando raggiunge  $-1,5^{\circ}\text{C}$  o  $-2^{\circ}\text{C}$  spegnere l'agitatore e notare il fenomeno della sopra fusione), risale rapidamente per arrestarsi al punto di congelamento del latte
- ◆ Riconfermare il valore letto, estraendo la provetta crioscopica, riscaldandola leggermente con la mano e ripetendo la prova. Quindi annotare la temperatura di congelamento del latte.

## CALCOLI

$$\text{INDICE CRIOSCOPICO}(^{\circ}\text{C}) = T - T_1$$

**T = temperatura di congelamento dell'acqua**

**T<sub>1</sub> = temperatura di congelamento del latte.**

## DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' PEROSSIDASICA

### PRINCIPIO DEL METODO:

L'enzima perossidasi decompone il perossido di idrogeno. L'ossigeno atomico liberato ossida l'1,4-fenilendiammina che è incolore trasformandola in indofenolo di colore viola. La comparsa di tale colore indica la presenza dell'enzima perossidasi nel latte; l'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione dell'enzima.

### REAGENTI:

- ◆ **SOLUZIONE DI 1,4- FENILENDIAMMINA:** Sciogliere in acqua calda a 50° 2 g di 1,4-fenilendiammina (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>) e portare a 100 ml. Versare la soluzione in una bottiglia scura con un tappo di vetro e conservarla al fresco e al riparo dalla luce. Uno o due giorni dopo la preparazione una soluzione di 1,4-fenilendiammina forma un deposito e non è più utilizzabile.
- ◆ **SOLUZIONE DI PEROSSIDO DI IDROGENO:** Diluire con acqua 9 ml di perossido di idrogeno al 30% e portare a 100 ml . Per stabilizzare aggiungere 1 ml di acido solforico concentrato per litro di soluzione. La soluzione preparata è stabile per un mese se viene tenuta al fresco e al riparo dalla luce in una bottiglia con tappo di vetro evitando qualsiasi contatto con composti organici

### PREPARAZIONE:

- ◆ Aggiungere 3 ml di acqua distillata ad una delle due provette contenenti il reattivo in polvere.
- ◆ Agitare bene sino a completo scioglimento del contenuto.
- ◆ Versare la soluzione così ottenuta in uno dei due flaconi di reagente A. Da questo momento la durata del prodotto è di circa un mese. Il cambio di colore del liquido rivela l'immediata scadenza
- ◆

### ESECUZIONE:

- ◆ Introdurre nella provetta 5 ml di latte da esaminare.
- ◆ Aggiungere 5 gocce di reattivo A preparato nel modo sopra descritto.
- ◆ Aggiungere 3 gocce di reattivo B

## TABELLA 17 - RISULTATI ANALISI CHIMICHE

**Data prelievo dei campioni: 14 – 02 – 2000**

**Data esecuzione analisi: 14 – 02 – 2000 / 15 – 02 - 2000**

	<b>Valori di riferimento</b>	<b>LATTE CRUDO</b>	<b>LATTE PASTORIZZATO</b>	<b>LATTE CRUDO</b>
--	------------------------------	--------------------	---------------------------	--------------------



		<b>S.I.L.P. GORIZIA</b>	<b>S.I.L.P. GORIZIA</b>	<b>PICCOLO PRODUTTORE AZ. BRESSAN LUCINICO (GO)</b>
<b>INDICI CHIMICO- FISICI</b>				
<b>PH</b>	<b>6,6 – 6,8</b>	<b>6,76</b>	<b>6,77</b>	<b>6,77</b>
<b>Peso specifico latte a 15 °C (g/ml)</b>	<b>1,029 – 1,034</b>	<b>1,033</b>	<b>1,035</b>	<b>1,032</b>
<b>Peso specifico siero a 15 °C (g/ml)</b>	<b>1,026 – 1,029</b>	<b>1,027</b>	<b>1,027</b>	<b>1,027</b>
<b>Acidità (°SH/100 ml)</b>	<b>7 – 8</b>	<b>8,0</b>	<b>8,0</b>	<b>7,4</b>
<b>Indice crioscopico (°C)</b>	<b>&gt; - 0,520</b>	<b>- 0,520</b>	<b>n.d.</b>	<b>n.d.</b>
<b>Residuo secco ( % m/m )</b>	<b>12 – 13</b>	<b>13 ( * )</b>	<b>13( * )</b>	<b>12,70</b>
<b>Residuo secco magro( % m/m )</b>	<b>&gt; 8,50</b>	<b>9,2</b>	<b>9,3</b>	<b>9,0</b>
<b>PARAMETRI COMPOSITIVI</b>				
<b>Grasso ( % m/v )</b>	<b>3,2 – 4,5</b>	<b>3,8</b>	<b>3,8</b>	<b>3,7</b>
<b>Proteine (% m/v)</b>	<b>2,9 – 3,3</b>	<b>3,20</b>	<b>3,20</b>	<b>3,49</b>
<b>Caseina ( % m/v )</b>	<b>2,3 – 2,6</b>	<b>2,48</b>	<b>2,48</b>	<b>2,70</b>
<b>Lattosio ( % m/v )</b>	<b>4,6 – 4,8</b>	<b>4,69</b>	<b>4,76</b>	<b>4,63</b>

(\*)= valori approssimati

## TABELLA 18 - RISULTATI ANALISI CHIMICHE

Data prelievo dei campioni: 04- 04 - 2000

Data esecuzione analisi: 04 - 04 - 2000

	<b>Valori di riferimento</b>	<b>LATTE CRUDO S.I.L.P. GORIZIA</b>	<b>LATTE PASTORIZZATO S.I.L.P. GORIZIA</b>	<b>LATTE CRUDO PICCOLO PRODUTTORE GORIZIA</b>
<b>INDICI CHIMICO-FISICI</b>				
<b>PH</b>	<b>6,6 – 6,8</b>	<b>6,70</b>	<b>6,69</b>	<b>6,65</b>
<b>Peso specifico latte a 15 °C (g/ml)</b>	<b>1,029 – 1,034</b>	<b>1,033</b>	<b>1,033</b>	<b>1,030</b>
<b>Peso specifico siero a 15 °C (g/ml)</b>	<b>1,026 – 1,029</b>	<b>1,027</b>	<b>1,030</b>	<b>1,029</b>
<b>Acidità (°SH/100 ml)</b>	<b>7 – 8</b>	<b>7,7</b>	<b>7,8</b>	<b>7,4</b>
<b>Indice crioscopico (°C)</b>	<b>&gt; - 0,520</b>	<b>- 0,522</b>	<b>n.d.</b>	<b>n.d.</b>
<b>Residuo secco (% m/m)</b>	<b>12 – 13</b>	<b>12,96</b>	<b>12,68</b>	<b>12,58</b>
<b>Residuo secco magro (% m/m)</b>	<b>&gt; 8,50</b>	<b>8,76</b>	<b>9,08</b>	<b>8,58</b>
<b>PARAMETRI COMPOSITIVI</b>				
<b>Grasso (% m/v)</b>	<b>3,2 – 4,5</b>	<b>4,2</b>	<b>3,6</b>	<b>4,0</b>
<b>Proteine (% m/v)</b>	<b>2,9 – 3,3</b>	<b>3,06</b>	<b>3,10</b>	<b>3,10</b>
<b>Caseina (% m/v)</b>	<b>2,3 – 2,6</b>	<b>2,36</b>	<b>2,40</b>	<b>2,40</b>

<b>Lattosio</b>	<b>4,6 – 4,8</b>	<b>4,69</b>	<b>4,83</b>	<b>4,63</b>
<b>(% m/v)</b>				

## **DISCUSSIONE SUI RISULTATI SPERIMENTALI**

**Le analisi sono state eseguite nei mesi di febbraio e di aprile 2000 su campioni di latte crudo e pastorizzato prelevati dalle aziende secondo le modalità di campionamento previste . Nonostante il numero limitato di campioni analizzati è comunque possibile trarre delle utili indicazioni dai risultati ottenuti.**

Come si può notare dalle tabelle i valori misurati per le grandezze esaminate sono compresi entro i parametri di riferimento previsti dalla legislazione vigente e in linea di massima non si evidenziano variazioni significative tra la composizione e gli indici chimico – fisici dello stesso latte crudo o pastorizzato.

Si fa notare che le determinazioni relative all'indice crioscopico risultano incomplete in quanto , non disponendo il nostro Istituto di un crioscopio , sono state eseguite solo presso l'Azienda S.I.L.P. all'arrivo del latte in stabilimento con lo strumento in dotazione alla stessa . Considerando l'indice crioscopico si riscontrano valori superiori a  $- 0,535 \text{ }^{\circ}\text{C}$  , valore riportato in letteratura come normale per il latte crudo di massa ( Alais, 1984 ) . Alcuni autori ( Casali et al., 1988 ) osservano però che le modificazioni compositive avvenute nel latte crudo in questi ultimi anni hanno causato un innalzamento dell'indice crioscopico . Il latte è pertanto da ritenersi conforme in quanto il limite di  $- 0,520^{\circ}\text{C}$  fissato nella Direttiva CEE 85 / 397 si riferisce al latte crudo destinato a latte alimentare.

Si fa notare inoltre che alcuni valori relativi alla determinazione del residuo secco sono approssimati a causa di problemi verificatisi nelle operazioni di pesata , che non è stato possibile correggere con prove successive.

I valori relativi al pH ed all'acidità sono indicativi della qualità e della freschezza della materia prima e per tutti i campioni rientrano nei limiti prefissati .

Per quanto riguarda le caratteristiche compositive si può osservare come il contenuto di grasso si dimostri legato alla composizione del latte di provenienza e ai fattori che la influenzano ma scarsamente dipendente dal trattamento termico subito che può comportare solo una maggiore aggregazione dei globuli costituenti.

Analizzando il contenuto in proteine si osserva che 5 campioni su 6 presentano valori uguali o superiori al 3,1 % , valore minimo fissato per il latte crudo destinato a latte fresco di alta qualità

( Decreto n. 185 del 9/5/ 1991 ). Dalle tabelle si evidenzia anche l'influenza del periodo stagionale sul contenuto proteico : in autunno – inverno si hanno sempre percentuali di proteine maggiori ( dal 3,20 al 3,49 % ) che in primavera – estate ( dal 3,06 al 3,10 % ) .

Il contenuto in lattosio risulta più elevato nel latte pastorizzato rispetto al latte crudo, come confermato in letteratura .

Infine il valore positivo dell'attività perossidasi ( enzima lattoperossidasi ) conferma che l'abbattimento della carica microbica realizzato con il trattamento termico della pastorizzazione è stato ottenuto utilizzando temperature inferiori a 76°C per 15 s e comunque non superando gli 80°C , temperatura oltre la quale l'enzima viene disattivato ( prova negativa ).