

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TORINO



Facoltà di Farmacia

Via Pietro Giuria, 9
10125 Torino

Corso di Laurea Magistrale in:
CHIMICA E TECNOLOGIA FARMACEUTICHE

Corso di Laurea in:
TECNICHE ERBORISTICHE

***Breve Guida alle Esercitazioni di Laboratorio di:
Chimica degli Alimenti
Chimica Bromatologica
Analisi degli Alimenti***

Anno Accademico 2011-2012

A cura di:
Chiara Cordero
Erica Liberto

La guida alle esercitazioni è stata realizzata facendo riferimento al testo:
“Introduzione all'analisi degli alimenti” autori: Aldo Martelli, Carlotta Frattini - Editore Corso
(Ferrara)

Letture consigliate:

H.D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle. *Food Chemistry 4° English Edition*. Editore Springer.
P. Cabras, A. Martelli, *Chimica degli alimenti*, Editore Piccin P. Cappelli, V. Vannucchi *Chimica degli
alimenti conservazione e trasformazioni*,
Editore Zanichelli
C. Weaver, *The food chemistry laboratory*, Editore CRC Press (1996)

INDICE DELLE ESPERIENZE PRATICHE

1. ANALISI DEL VINO.....	4
1.1 Determinazione del grado alcolico per distillazione.....	4
1.2 Determinazione del grado alcolico con l'ebullimetro di Malligand.....	7
NOTE -Ebullimetro di Malligand	8
1.3 Determinazione dell'acidità totale	10
1.4 Determinazione dell'acidità volatile	10
NOTE- ACIDIMETRO DI IOZZI.....	12
1.5 Determinazione degli antociani:	13
1.6 Determinazione del limite di gessatura dei vini	14
2. ANALISI DEL CIOCCOLATO.....	15
2.1 Determinazione della materia grassa	15
2.2 Determinazione degli zuccheri.....	18
NOTE - Il polarimetro e la scala internazionale saccarimetrica ISS	18
NOTE – POLARIMETRO PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO	22
3. ANALISI DELLE CONSERVE	24
3.1 Determinazione dell'umidità -metodo di Marcusson.....	24
3.2 Determinazione degli zuccheri mediante l'indice di rifrazione	26
NOTE - Introduzione alla rifrattometria.....	28
4. ANALISI DEL LATTE	32
4.1 Determinazione del peso specifico	32
4.2 Determinazione dell'acidità del latte - metodo Soxhlet-Henkel	33
4.3 Determinazione della sostanza grassa del latte	34
5. ANALISI DEL BURRO	36
5.1 Determinazione del numero degli acidi volatili solubili in acqua.....	36
5.2 Determinazione degli acidi volatili insolubili in acqua.....	38
5.3 Determinazione del grado rifrattometrico	38
5.4 Determinazione quantitativa della sostanza grassa del burro	39
6. ANALISI DELL'OLIO DI OLIVA	40
6.1 Determinazione dell'acidità	40
Note -Acidità libera	41
6.2 Numero di iodio	41
6.3 Valutazione della rancidità.....	44
6.4 Determinazione del Numero di Perossidi	44
Note - Numero di perossidi.....	45
6.5 Ricerca dei dieni e dei trieni.....	47
Note - Determinazione spettrofotometrica U.V.....	48
6.6 Numero di saponificazione	51
6.7 Indice di Rifrazione.....	52
7. ANALISI DELL'ACQUA	53
7.1 Determinazione del numero di ossidabilità	53
7.2 Determinazione della durezza dell'acqua.....	54
7.3 Ricerca e determinazione dei cloruri	56
7.4 Ricerca del ferro.....	57
7.5 Ricerca e determinazione dell'ammoniaca, dei nitriti e dei nitrati	59

1. ANALISI DEL VINO

1.1 Determinazione del grado alcolico per distillazione

Il **grado alcolico** (o **gradazione alcolica** o **alcol svolto**) di un vino è rappresentato dai mL di alcol effettivamente presenti in 100 mL di vino (è dunque una percentuale v/v) misurati alla temperatura di 20 °C.

Il **metodo ufficiale** impiegato per la determinazione del grado alcolico è quello **per distillazione**. Tale metodo si basa sul rapporto tra il peso specifico di liquidi alcolici e loro contenuto in alcol. Le miscele acqua/alcol hanno, infatti, peso specifico tanto più basso (rispetto all'acqua distillata) quanto più alto è il contenuto in etanolo.

Reattivi: *sospensione di idrossido di calcio (120 g/l) e acqua distillata.*

Vetzeria: *matraccio tarato da 100 mL classe A;*

*matraccio tarato da 100 mL classe A con tacca corrispondente ai 75 mL;
apparecchiatura di distillazione;*

dispositivo per la determinazione del peso specifico.

Procedimento: *si misurano esattamente 100 mL di vino in matraccio tarato e si versano in un pallone da 500 mL, lavando il matraccio 2 o 3 volte con poca acqua e riunendo le acque di lavaggio al vino.*

Si procede quindi alla neutralizzazione con 3÷4 g circa di latte di calce (sospensione di idrossido di calcio) in modo da fissare gli acidi volatili.

Dopo aver collegato il pallone al refrigerante ed inserito il termometro per la misurazione della temperatura di distillazione, si procede, raccogliendo circa 75 mL di distillato in un matraccio tarato da 100 mL.

Si porta a volume con acqua distillata e si determina il peso specifico a 15 °C/15 °C (il rapporto cioè fra i pesi di uguali volumi di distillato e di acqua distillata, determinati a 15 °C).

In base alle apposite tabelle si potrà ricavare il grado alcolico dal valore del peso specifico misurato. Se, come prescrivono i Metodi Ufficiali, il peso specifico viene invece determinato a 20 °C/20 °C (vale a dire se si determina il rapporto tra i pesi di uguali volumi di distillato e di acqua distillata, entrambi a 20 °C), si farà ricorso alle Tabelle di Reichard.

Il valore da cercare in tabella si ottiene applicando la formula che segue:

$$X = \frac{Ps \text{ distillato}}{Ps \text{ acqua distillata}}$$

Dove: Ps distillato = peso specifico del distillato
Ps acqua = peso specifico dell'acqua distillata

Tabella per il calcolo della gradazione alcolica dai valori del Ps (per vini con gradazione alcolica da 8,07 a 15,75 Vol.% (Tabella di Reichard).



Apparecchio per la distillazione del vino

Peso specifico miscela alcole acqua 20 °C/20 °C				Peso specifico miscela alcole acqua 20 °C/20 °C				Peso specifico miscela alcole acqua 20 °C/20 °C			
Alcole etilico		Alcole etilico		Alcole etilico		Alcole etilico		Alcole etilico		Alcole etilico	
g/l	mL/l	Vol.%	g/l	mL/l	Vol.%	g/l	mL/l	Vol.%	g/l	mL/l	Vol.%
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
0,9889	63,7	80,7	8,07	0,9859	83,1	105,2	10,52	0,9829	103,6	131,3	13,13
8	64,4	81,6	8,16	8	83,8	106,1	10,61	8	104,3	132,1	13,21
7	65	82,1	8,24	7	84,5	107	10,7	7	105	133	13,3
6	65,6	83,2	8,32	6	85,1	107,8	10,78	6	105,7	133,9	13,39
5	66,3	84	8,4	5	85,8	108,7	10,87	5	106,4	134,8	13,48
4	66,9	84,8	8,48	4	86,5	109,6	10,96	4	107,1	135,6	13,56
3	67,5	85,5	8,55	3	87,2	110,5	11,05	3	107,8	136,5	13,65
2	68,2	86,4	8,64	2	87,8	111,3	11,13	2	108,5	137,4	13,65
1	68,8	87,1	8,71	1	88,5	112,1	11,21	1	109,2	138,3	13,83
0	69,4	87,9	8,79	0	89,2	113	11,3	0	109,9	139,2	13,92
0,9879	70,1	88,8	8,88	0,9849	89,9	113,9	11,39	0,9819	110,7	140,2	14,02
8	70,7	89,6	8,96	8	90,6	114,8	11,48	8	111,4	141,1	14,11
7	71,4	90,4	9,04	7	91,2	115,6	11,56	7	112,1	142	14,2
6	72	91,2	9,12	6	91,9	116,4	11,64	6	112,8	142,9	14,29
5	72,7	92,1	9,21	5	92,6	117,3	11,73	5	113,5	143,8	14,38
4	73,3	92,9	9,29	4	93,3	118,2	11,82	4	114,2	144,7	14,47
3	74	93,7	9,37	3	94	119,1	11,91	3	114,9	145,6	14,56
2	74,6	94,5	9,45	2	94,7	120	12	2	115,7	146,5	14,65
1	75,3	95,4	9,54	1	95,4	120,8	12,8	1	116,4	147,4	14,74
0	75,9	96,2	9,62	0	96	121,6	12,16	0	117,1	148,3	14,81
0,9869	76,6	97	9,7	0,9839	96,7	122,5	12,25	0,9809	117,8	149,2	14,92
8	77,2	97,8	9,78	8	97,4	123,4	12,34	8	118,5	150,1	15,01
7	77,9	98,6	9,86	7	98,1	124,2	12,42	7	119,3	150,1	15,11
6	78,5	99,4	9,94	6	98,8	125,1	12,51	6	120	152	15,2
5	79,1	100,2	10,02	5	99,5	126	12,6	5	120,7	152,9	15,29
4	79,8	101	10,1	4	100,2	126,9	12,69	4	121,5	153,9	15,29
3	80,4	101,8	10,18	3	100,9	127,8	12,78	3	122,2	154,8	15,48
2	81,1	102,7	10,27	2	101,6	128,7	12,87	2	122,9	155,7	15,57
1	81,8	103,6	10,36	1	102,3	129,6	12,96	1	123,6	156,6	15,66
0	82,5	104,4	10,44	0	103	130,5	13,05	0	124,5	157,5	15,75

1.2 Determinazione del grado alcolico con l'ebulliometro di Malligand

Un metodo più rapido, ma con significato puramente orientativo, è quello ebullimetrico. Il **metodo ebullimetrico** si basa sulla variazione del punto di ebollizione di una soluzione idroalcolica in funzione del suo contenuto in etanolo. Esso è, infatti, tanto più basso, quanto più elevato è il contenuto alcolico. In pratica si impiega l'apparecchio di **Malligand** che consta di una piccola caldaia metallica conica nella quale viene posto il liquido del quale si deve determinare il grado alcolico, il liquido viene scaldato per mezzo di una circolazione a termosifone ottenuta con un anello metallico cavo riscaldato da un forellino ad alcol. Sopra la caldaia, come chiusura, si trova un coperchio a vite sul quale è innestato un refrigerante e un termometro, piegato ad angolo retto, il cui bulbo pesca nella caldaia. Sul braccio orizzontale del termometro (non graduato) può scorrere un regolo graduato, fissabile con una vite, che porta la gradazione da 0 a 25.

Procedimento: per fissare lo zero dello strumento, si introduce acqua nella caldaia fino a livello inferiore b_1 (segnato da un piccolo rilievo) in modo che il bulbo del termometro non sia bagnato ma venga poi lambito dai vapori.

Dopo aver avvitato il coperchio e il refrigerante (avendo cura di non esercitare pressione sul braccio orizzontale, pena la rottura del termometro) si scalda all'ebollizione mediante la lampada ad alcol. Quando l'avanzamento della colonna di mercurio si arresta, si fa coincidere lo zero della scala con il limite raggiunto dal mercurio e si fissa la scala mediante l'apposita vite. Lo zero, così determinato, dipendendo dalla pressione atmosferica, va quindi determinato di volta in volta.

Fissato lo zero, si svita il coperchio (attenzione a non rompere il bulbo del termometro!!), si toglie l'acqua, si risciacqua la caldaia con il vino, si introduce quindi questo fino al livello superiore b_2 (secondo scanalatura interna) utilizzando una pipetta. Riavvitato il coperchio, si introduce acqua fredda nel refrigerante e si scalda all'ebollizione.

Quando la colonna di mercurio cessa di avanzare si legge sulla scala direttamente il grado alcolico del vino.

Per i vini ad alta gradazione o dolci è opportuno diluire il campione con un uguale volume di acqua, tenendo conto di ciò nella lettura del grado alcolico.

NOTE -Ebullimetro di Malligand

L'ebullimetro di Malligand è un apparecchio di interesse puramente merceologico, la versione illustrata risale agli anni '30, per la determinazione rapida e ragionevolmente accurata del grado alcolico di vini secchi, preferibilmente rossi, fondato sul principio che le miscele idroalcoliche presentano una temperatura di ebollizione inferiore a quella dell'acqua, in misura proporzionale al loro contenuto in alcool.



Ebullimetro di Malligand



Sistema di riscaldamento a termosifone con camino ed anello

ESEMPIO DI LETTURA

Azzeramento



Si posiziona lo zero dell'astina mobile in corrispondenza con l'estremità della colonna di mercurio, bloccandola con la vite di fissaggio. L'apparecchio è così regolato per la pressione barometrica esistente al momento della determinazione.

Lettura



Quando la colonna di mercurio, si sarà fermata è possibile leggere, con molta attenzione, il grado alcolico del vino (normalmente si legge quando il refrigerante assume il calore della mano). In questo caso è di 11 Vol.%.

1.3 Determinazione dell'acidità totale

A temperatura ambiente il **valore del pH iniziale** del vino è di solito compreso tra 2,8 e 3,6 essendo elemento variabile anche durante la vinificazione e la conservazione. Questo valore ha grande importanza in enologia. Il tono e la vivacità del colore dei vini rossi dipende dal loro pH.

Reattivi: *soluzione di KOH N/4 (0,25 N).*

Vetreteria: *buretta 50 mL classe A;
agitatore magnetico;
beuta da vuoto e pompa ad acqua.*

Procedimento: *il vino deve essere mantenuto per circa 1 minuto in una beuta da vuoto collegata con una pompa ad acqua al fine di privarlo dell'anidride carbonica. Successivamente, un adatto volume di vino è posto in un beaker e in esso viene immerso l'elettrodo del pH-metro. Si pone quindi il beaker su di un agitatore magnetico e si procede alla titolazione impiegando la soluzione di KOH N/4. Si annota il volume impiegato per raggiungere la neutralità (pH = 7).*

L'acidità totale verrà espressa in g/L di acido tartarico.

Normalmente tale valore è compreso tra 4 e 12. Se sono sopravvenute alterazioni che hanno aumentato l'acidità volatile, anche quella totale risulterà aumentata.

L'acidità titolabile può anche essere espressa in meq. di base per litro. Normalmente allora il suo valore è compreso tra 53 e 160 meq./L.

1.4 Determinazione dell'acidità volatile

Nell'acidità volatile del vino sono comprese tutte le sostanze acide distillabili in corrente di vapore senza decomposizione, fatta eccezione per l'anidride carbonica (che deve essere allontanata prima della determinazione) e dell'anidride solforosa libera e in combinazioni volatili, per esempio come l'acido etansolfonico (che deve quindi essere determinata iodometricamente e detratta, se presente).

Reattivi: *soluzione di KOH N/10 (0,10 N);
soluzione di fenolftaleina alcolica all'1%.*

Vetreteria: *buretta 50 mL classe A;
beuta da vuoto e pompa ad acqua;
apparecchio di distillazione in corrente di vapore "acidimetro di lozzi".*

Procedimento: *nel pallone dell'apparecchio di distillazione si versano 50 mL di vino (preventivamente privati dell'anidride carbonica per agitazione di circa 5 min. a*

freddo in beuta sotto vuoto) e, montato l'apparecchio, si distilla in corrente di vapore fino a raccogliere circa 200 mL di distillato.

Il distillato viene quindi titolato con KOH 0,1 N, indicatore fenolftaleina, fino a colorazione rosea.

L'acidità volatile verrà espressa in g/L di acido acetico.

VINI	Limite massimo in meq/L di acido acetico	Limite massimo in g/L di acido acetico
Bianchi	18	1,08
Rossi	20	1,20

Tali valori sono decisamente elevati: i valori normali variano generalmente tra 0,40÷0,60 g /L di acido acetico.

NOTE- ACIDIMETRO DI IOZZI



Istruzioni per l'utilizzo

Si svitano i due tappi laterali della caldaia e il pallone di vetro posto nella parte superiore, il quale si ripone sul suo sostegno di legno.

Dalla bocchetta superiore della caldaia si immette acqua distillata fino a sfiorare il livello dell'orifizio inferiore, che si richiude immediatamente stringendo con l'apposita chiavetta, mentre si lascia aperto quello superiore.

Si accende il fornello a gas (tenendo premuto il pulsante di sicurezza per 5 secondi) e dopo 8÷10 minuti l'acqua della caldaia entrerà in ebollizione, questo si avverte dal vapore che uscirà dalla bocchetta superiore rimasta aperta.

Dopo di che il pallone, nel quale si saranno messi 50 mL esatti del vino in esame, si innesta nel foro della guarnizione di sughero posto al centro superiore della caldaia.

Si congiunge la bocca del pallone con il raccordo che va al refrigerante.

Si avvita il tappo superiore della caldaia in modo tale che il vapore d'acqua sia costretto a gorgogliare nel vino. Il vapore asporterà gli acidi volatili che si condenseranno con il vapore stesso e si raccoglieranno in una beuta.

Quando il liquido distillato avrà raggiunto il volume di 200 mL, la distillazione deve essere arrestata (si impiegano circa 40÷45 minuti).

Si rimuove quindi prima il tappo superiore della caldaia e successivamente si spegne il fornello. Fare attenzione a non invertire l'ordine di queste due ultime operazioni altrimenti il vino contenuto nel pallone verrebbe aspirato nella caldaia.

Determinazione dell'acidità volatile nella birra.

Si seguono le stesse modalità indicate per il vino. E' bene però aggiungere nel palloncino, dopo messa la birra, una piccola presa di tannino, affinché durante la distillazione non si formi eccessiva schiuma.

1.5 Determinazione degli antociani:

Reattivi: soluzione di HCl 0,1% in volume in etanolo a 95°,
soluzione di HCl 2% in volume,
tamponi a pH = 3,5.

Vetreteria: provette graduate;
pitette graduate classe A e pro-pipetta;
cuvette in materiale polimerico.

Procedimento: in due provette da 20 mL si introducano 1 mL di vino e 1 mL di HCl 0,1%. Quindi in una si aggiungano 10 mL di HCl 2% e nell'altra 10 mL di soluzione tampone. Si legge quindi la densità ottica (Assorbanza) a 520 nm utilizzando come zero acqua distillata. Dalla differenza tra le densità ottiche si può ricavare il valore degli antociani espressi in mg/l utilizzando la retta di calibrazione riportata in tabella.

Antociani mg/L	Δ D.O.
375,0	0,970
187,5	0,492
93,5	0,244
75,0	0,187
37,5	0,092

1.6 Determinazione del limite di gessatura dei vini

Allo scopo di renderli brillanti, è consentito aggiungere ai vini solfato di calcio fino al limite massimo, per i vini comuni, corrispondente a 1 g di solfato potassico neutro per l.

Il solfato di calcio reagisce con il tartrato acido di potassio presente nel vino per cui si forma tartrato di calcio che precipita trascinando varie sostanze intorbidanti.

Reattivi: *acido solforico 2N (circa 10%),
soluzione di cloruro di bario: aggiunta ad un uguale volume di vino deve precipitare una quantità di solfati corrispondente al limite fissato. Un l di tale soluzione contiene 1,401 g di cloruro di bario biidrato ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e 30 mL di HCl concentrato (in ambiente acido è insolubile il solo solfato di bario e non gli altri sali).*

Vetreteria: *beaker, cilindri graduati, imbuti, beute;
pitette graduate classe A e pro-pipetta;
carta da filtro.*

Procedimento: *per controllare se è stato superato il limite di gessatura, a 50 mL di vino all'ebollizione si aggiungono 50 mL di soluzione di cloruro di bario. Si filtra e il filtrato si divide in due parti. Ad una si aggiunge cloruro di bario: in caso di intorbidimento, cioè in presenza di solfati, il limite di gessatura è stato superato. All'altra si aggiunge acido solforico diluito: in caso di intorbidimento, cioè in presenza di ioni bario, il limite non è stato superato. Se in entrambi i casi si ha intorbidimento, la gessatura è al limite, cioè corrisponde esattamente ad 1 g di solfato potassico per litro.*

2. ANALISI DEL CIOCCOLATO

2.1 Determinazione della materia grassa

L'analisi della materia grassa ha evidentemente un notevole significato dal punto di vista sia quantitativo (grasso totale) che qualitativo (quale tipo di grasso). Per esempio possono essere presenti il grasso del latte, quello delle nocciole e delle mandorle, per non parlare di eventuali lipidi del tutto estranei e non ammessi.

Per la determinazione quantitativa del grasso si può ricorrere ad un metodo che consiste nell'estrarre il **grasso totale** con l'**apparecchio di Soxhlet**.

L'apparecchio di Soxhlet consta di tre parti sovrapposte: il **pallone (che deve essere tarato)** in cui si introduce il solvente; il **tubo estrattore** in cui si introduce, entro un ditale di carta da filtro, la sostanza da estrarre; il **refrigerante** ad acqua.

Il pallone viene scaldato su bagno maria o su mantello elettrico e i vapori del solvente, passando per il tubo laterale del tubo estrattore, vanno a condensarsi nel refrigerante; di qui il solvente ricade a goccia a goccia nell'interno del ditale in cui si trova la sostanza da estrarre e ne scioglie il grasso, filtrando poi attraverso il ditale.

Quando il livello del solvente raggiunge la sommità del sifone, questo si innesca e il liquido "scarica" nel pallone portando con sé il grasso disciolto. Il ciclo si ripete con la successiva ebollizione del solvente e la sua condensazione nel refrigerante. L'estrazione è in pratica completa dopo una ventina di sifonamenti. Occorrerà allora distillare il solvente, eliminare le ultime tracce (mettere il pallone in stufa a 105 °C per circa 30 min.) e pesare il grasso rimasto nel pallone (in precedenza tarato).

Come solvente si può usare etere etilico o diclorometano.

Reattivi: diclorometano,
pomice in granelli.

Vetreteria: pallone 500 mL ;
cilindro graduato ed imbuto;
estrattore del Soxhlet;
refrigerante a bolle.

Procedimento: nel ditale dell'apparecchio di Soxhlet, pesato alla bilancia di precisione, si introducono 10 g circa di cioccolato, grattugiato o raspato con un coltello e si ripesa quindi alla bilancia di precisione.

Sul cioccolato posto sul ditale si mette un batuffolo di cotone idrofilo (pressando opportunamente) per impedire l'eventuale fuoriuscita di particelle.

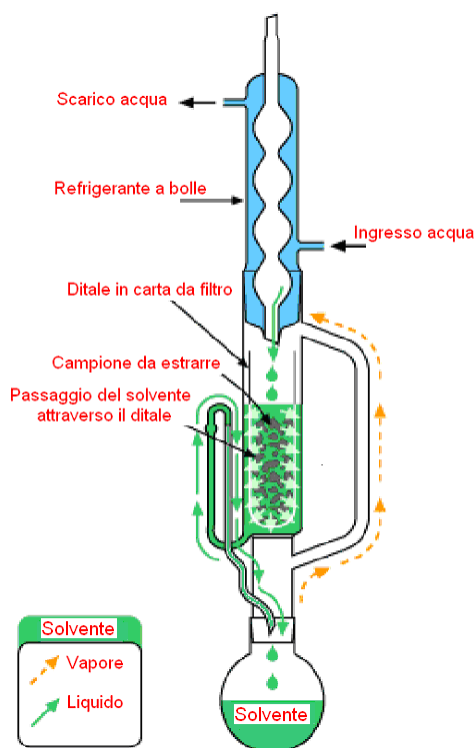
Nel pallone si introducono 2 granelli di pomice e si essicca il tutto in stufa 110 °C per un'ora, poi, dopo raffreddamento in essiccatore, si pesa alla bilancia di precisione.

Successivamente, nel pallone, si versano 80 mL di diclorometano e, ricomposto l'apparecchio, si versa dall'alto, attraverso il refrigerante, dell'altro diclorometano in modo da riempire il tubo estrattore quasi fino al livello del sifone. Si fa circolare l'acqua nel refrigerante, si scalda il bagno maria o con un mantello elettrico e si lascia l'apparecchio in funzione per un paio di ore.

Indi si smonta l'apparecchio e si connette il pallone contenente il solvente, al refrigerante discendente e si scalda il pallone fino a completa distillazione del solvente.

Quando questa è ultimata si porta il pallone in stufa a 105 °C e lo si lascia per mezz'ora in modo da eliminare le ultime tracce di solvente.

Dopo raffreddamento in essiccatore, si pesa il pallone alla bilancia di precisione. Per differenza tra la pesata alla fine e all'inizio dell'esperienza, si ha il peso di grasso estratto, che deve venir riferito a 100 parti di sostanza.



Schema di funzionamento dell'estrattore di Soxhlet



Estrattore di Soxhlet



Evaporatore rotante a pressione ridotta

2.2 Determinazione degli zuccheri

Gli zuccheri che vengono ricercati nel cioccolato sono essenzialmente il **saccarosio**, il **glucosio** e il **fruttosio**, come si può dedurre dalle norme di legge riguardanti vari tipi di cioccolato e dalla definizione dei prodotti detti “surrogati”. Vediamo in particolare la determinazione del saccarosio.

La determinazione si esegue per via polarimetrica sull'estratto acquoso, previa defecazione con acetato basico di piombo ed eliminazione dell'eccesso di sale di piombo per aggiunta di soluzione spiombante.

NOTE - Il polarimetro e la scala internazionale saccarimetrica ISS

Il polarimetro è essenzialmente costituito da una sorgente dalla quale si ottiene un raggio monocromatico parallelo mediante un sistema di filtri ed un collimatore. Il raggio monocromatico viene polarizzato da un prisma di Nicol e passa quindi attraverso il campione da analizzare. Il campione è contenuto in una cella costituita da un tubo di vetro di lunghezza nota. Il raggio giunge infine all'analizzatore costituito da prismi di Nicol ruotabili, dove si ha la valutazione ottica corrispondente all'annullamento del raggio polarizzato. In commercio attualmente molti dei polarimetri esistenti sono fotoelettrici e possono operare a più lunghezze d'onda fisse con valutazione automatica della rotazione.

La polarimetria a lunghezza d'onda costante viene utilizzata nell'identificazione quantitativa di sostanze chiraliche e nell'analisi quantitativa di sostanze otticamente attive quali il saccarosio nell'industria degli zuccheri.

Sin dall'adozione da parte della Commissione Internazionale per le Procedure Armonizzate di Analisi Saccarimetrica (International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis/CUMSA), la scala internazionale saccarimetrica ISS è stata ampiamente utilizzata in tutto il mondo per misurare la quantità di saccarosio contenuta nello zucchero. La scala fornisce una valutazione mediante la quale $100^{\circ} Z$ di zucchero sono equivalenti ad un angolo di rotazione di $34,626^{\circ}$ di soluzione di zucchero, pari a 26,000 g di saccarosio puro disciolto in 100 mL di acqua distillata. La soluzione viene analizzata in un tubo di osservazione (cella) di 200 mm misurandola alla lunghezza d'onda corrispondente alla riga D (589,3 nm) dei vapori di sodio. Per cui $1^{\circ} Z$ corrisponde a $0,34626^{\circ}$ di un angolo di rotazione. Mentre 1° di rotazione corrisponde a $2,8880^{\circ} Z$.

Determinazione del potere rotatorio

Il potere rotatorio è la proprietà posseduta da certe sostanze di ruotare il piano di polarizzazione della luce polarizzata. Il potere rotatorio specifico $[\alpha]_D^{20}$ di una sostanza in soluzione è definito dall'angolo di rotazione α espresso in ($^{\circ}$), del

piano di rotazione, alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$), misurato a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, su di una sostanza da esaminare riferito ad uno spessore di 1 dm e ad una concentrazione della sostanza di 1 g/mL . Il polarimetro deve permettere delle letture a circa $0,01^\circ$.

La linearità della scala può essere verificata con l'impiego di soluzioni di saccarosio. Il potere rotatorio specifico si calcola applicando le seguenti formule, tenendo presente che viene indicato con (+) se destrogiro e con (-) se levogiro.

Per le sostanze liquide:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{1 \times P_{20}}$$

Per le sostanze solide:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times 100}{1 \times C}$$

Con le seguenti formule si calcola il contenuto percentuale della sostanza disciolta in percentuale in peso per volume oppure il contenuto C^1 in percentuale in peso.

$$C = \frac{\alpha \times 100}{[\alpha]_D^{20}}$$

$$C^1 = \frac{\alpha \times 100}{1 \times P_{20} \times [\alpha]_D^{20}}$$

dove:

α = angolo di rotazione espresso in gradi letto a $20 \pm 0,05 \text{ }^\circ\text{C}$,

1 = lunghezza del tubo polarimetrico espresso in dm,

P_{20} = densità a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ in g per cm^{-3} ,

C = concentrazione della sostanza in percentuale in peso per volume,

C^1 = concentrazione della sostanza in percentuale in peso.

Reattivi: *alcol etilico,
soluzione di acetato basico di piombo,
soluzione spiombante.*

Procedimento: *20 g di cioccolato si fondono a bagno maria, in capsula di porcellana dopo aver addizionato 4÷5 mL di alcol etilico, agitando con una bacchettina di vetro, in modo da formare una poltiglia omogenea. Si aggiunge in acqua bollente e il liquido torbido si versa in un matraccio tarato da 200 mL, lavando la capsula e la bacchettina di vetro con acqua calda, sino a portare il volume del liquido nel matraccio a circa 170 mL.*

Si raffredda bene e si aggiungono 10 mL di acetato basico di piombo; successivamente, dopo aver agitato bene, si addizionano altrettanti mL di soluzione spiombante.

(L'acetato basico di piombo precipita molte impurezze e sostanze colorate; l'eccesso di sale di piombo si elimina precipitando il piombo come solfato con la soluzione spiombante. La soluzione in esame resta così chiarificata e si può sottoporre a determinazione polarimetrica. L'operazione si chiama tecnicamente "defecazione"). Si porta a volume, indi si aggiungono ancora 8 mL di acqua (mediante pipetta), per tener conto del volume delle sostanze insolubili del cioccolato impiegato. Si agita e, dopo riposo di mezz'ora si filtra su imbuto di Buckner (se il filtrato non fosse perfettamente limpido, si deve ripetere la filtrazione).

Il liquido si osserva al polarimetro impiegando un tubo da 2 dm.

Dalla rotazione osservata si risale alla quantità di zucchero (saccarosio).

1 grammo di saccarosio, sciolto in 100 mL di soluzione, dà una rotazione di $1^{\circ}, 330$, se osservato in un tubo dello spessore di 2 dm; perciò, se α è l'angolo di rotazione osservato al polarimetro, espresso in gradi e in frazioni decimali (non sessagesimali!) di grado, la soluzione in esame conterrà x grammi di saccarosio in 100 mL:

$$1,330 : 1 = \alpha : x$$

$$\text{da cui } x = \alpha/1,330.$$

Poiché 20 g di cioccolato erano stati portati a 200 mL, 100 mL di soluzione corrispondono a 10 g di cioccolato, per cui la percentuale di saccarosio nel cioccolato sarà data da: $\alpha/1,330 \cdot 10$.

Tutto quanto sopra detto vale ovviamente nel caso in cui nel cioccolato sia presente soltanto saccarosio e nessun altro zucchero. Non vale quindi nel caso del cioccolato al latte che contiene chiaramente lattosio.



Polarimetro



Polarimetro con il comparto per la cella aperto



Cella del polarimetro

NOTE – POLARIMETRO PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

La luce è costituita da una serie di onde che oscillano su infiniti piani. La luce opportunamente filtrata per oscillare su un solo piano viene definita polarizzata. Quando una sostanza è attraversata da luce polarizzata, possiamo verificare se il piano di oscillazione della luce ruota durante il passaggio attraverso di essa. Se il piano resta invariato, la sostanza non è otticamente attiva; se invece il piano di oscillazione della luce polarizzata ruota, tale sostanza si definisce otticamente attiva. A seconda della rotazione che il piano subisce è possibile calcolare la concentrazione di quella sostanza. Il percorso che la luce compie attraverso la sostanza durante i test è standard e la rotazione subita dal piano è direttamente proporzionale alla concentrazione della sostanza; pertanto calcolando l'angolo della rotazione subita dal piano possiamo facilmente stabilire quanto è concentrata la sostanza.

Lo strumento impiegato è il polarimetro di Laurent, così detto dal nome del suo inventore. Per ottenere un'altissima sensibilità, il polarimetro è dotato, in una metà campo del campo visivo, di una lamina a mezz'onda per la luce monocromatica incidente. Con l'inserimento della lamina a mezz'onda si possono eseguire misure differenziali ossia misure di paragone diretto fra l'illuminazione delle due metà campo. Inoltre la misura viene seguita con poca illuminazione, dove l'occhio ha la massima sensibilità (ricordiamo che l'occhio umano ha una sensibilità che cresce logaritmicamente con l'illuminazione, ed è quindi in grado di apprezzare meglio variazioni di luce se l'oggetto si trova in penombra).

Una lampada a vapori di sodio illumina un prisma di Nicol, il fascio straordinario fuoriesce polarizzato linearmente e per metà entra direttamente nel liquido campione. L'altra metà attraversa anche la lamina a mezz'onda. I due raggi, entrambi polarizzati linearmente ma con un diversa direzione di polarizzazione, vengono analizzati dal secondo prisma di Nicol.

L'occhio, osservando all'interno dell'oculare, vede le due metà campo illuminate in modo diverso. Ruotando l'analizzatore di 360° si vede cambiare l'illuminazione delle due parti. Si possono individuare due angoli per cui le due metà campo sono ugualmente fortemente illuminate e due angoli per cui le due metà campo sono debolmente ed ugualmente illuminate. Uno di questi ultimi angoli va utilizzato per massimizzare la sensibilità della misura.

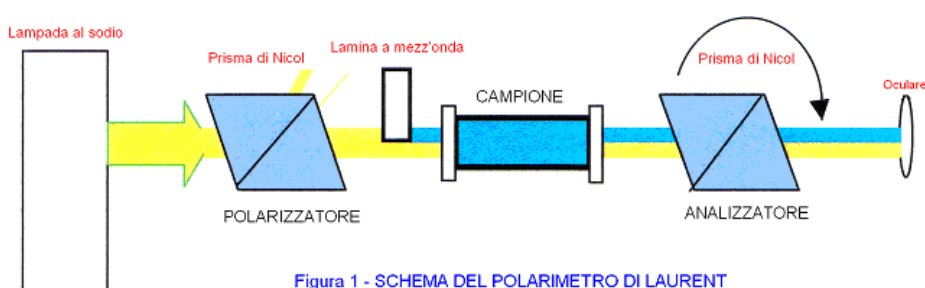


Figura 1 - SCHEMA DEL POLARIMETRO DI LAURENT



Figura 2 - Immagine che si osserva guardando l'oculare

Lamina a mezz'onda

La lamina a mezz'onda è costruita con un cristallo birifrangente (quarzo). Essa ha uno spessore tale che le componenti del vettore elettrico parallela e perpendicolare all'asse ottico della lamina, entrate con la stessa fase ne escano sfasate di π , cioè di mezzo giro, come riportato in Figura 3.

Un raggio entra nella lamina con polarizzazione lineare ed angolo rispetto all'asse ottico della lamina (verticale). Per la proprietà del cristallo birifrangente le due componenti: (parallela e perpendicolare all'asse ottico) si propagano con velocità diverse perché il cristallo presenta in queste due direzioni indici di rifrattioni n_1 ed n_2 . All'uscita della lamina esse si ricompongono e il piano di polarizzazione risulta ruotato di 2α .

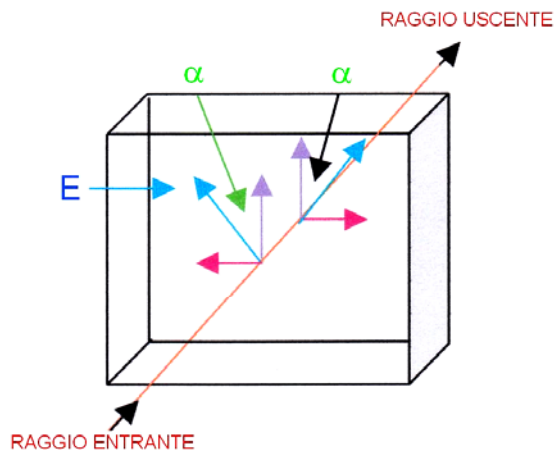


Figura 3 - Lamina a mezz'onda: il campo di vibrazione dell'onda uscente è ruotato di 2α rispetto a quello entrante

Prisma di Nicol

Il prisma di Nicol è costituito da due prismi di cristallo di calcite separati da una colla (balsamo del Canada $n = 1,55$) che presenta un indice di rifrazione intermedio fra i due indici di rifrazione della calcite (per il raggio ordinario l'indice di rifrazione è $n = 1,66$, per quello straordinario l'indice di rifrazione è $n = 1,49$). Raggio ordinario e raggio straordinario corrispondono alle componenti del campo elettrico parallela e perpendicolare all'asse ottico del prisma.

Un raggio di luce monocromatica entrando nel primo prisma viene così scomposto in due raggi: il raggio ordinario viene totalmente riflesso sulla superficie di separazione dei due prismi, mentre il raggio straordinario esce dal prisma di Nicol avendo subito una piccola deviazione. Essendo rimasta una sola componente, il raggio è polarizzato linearmente. Per ottenere questo risultato il prisma ha un angolo di 68° come riportato in Figura 4.

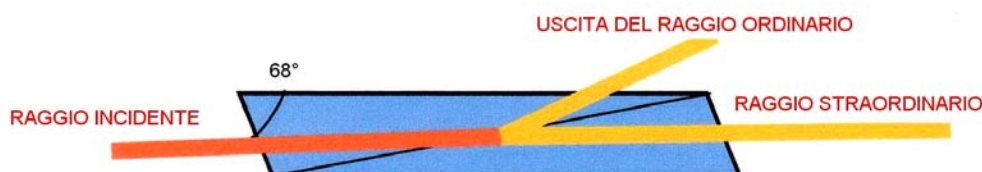


Figura 4 - Schema del prisma di Nicol

3. ANALISI DELLE CONSERVE

3.1 Determinazione dell'umidità -metodo di Marcusson

Per **conserva** si intende un prodotto alimentare stabilizzato per un tempo, se non illimitato, comunque abbastanza lungo, per **semiconserva** si intendono quei prodotti la cui conservazione è limitata nel tempo.

Tra le conserve vegetali possono essere ricordate le conserve di frutta all'acqua e allo sciroppo, i succhi e i nettari di frutta, le confetture, le gelatine, le marmellate, le conserve di ortaggi al naturale, le conserve di pomodoro e i pomodoro pelati.

Il D.P.R. n°489 del 1982 definisce il **succo di frutta** "il prodotto ottenuto con procedimento meccanico che conserva il colore, l'aroma ed il gusto caratteristico del frutto di provenienza. Per **nettare di frutta** si intende il prodotto che si ottiene aggiungendo acqua e zucchero al succo di frutta o al purè di frutta, anche se concentrati, o a determinate miscele di tali prodotti.

La **marmellata** è la mescolanza, opportunamente gelificata, di zuccheri e di uno o più dei seguenti prodotti ottenuti da frutta: polpa, purea, succo, estratti acquosi e scorza. Per la preparazione di 1 kg di prodotto finito la quantità di frutta utilizzata non deve essere inferiore a 200 g, di cui almeno 75 provenienti dall'endocarpo del frutto.

Per quanto riguarda i Metodi Ufficiali di Analisi delle Conserve essi utilizzano l'essiccazione sotto vuoto in stufa a 70 °C. Il metodo di **Marcusson** presenta un certo interesse in quanto permette una determinazione relativamente rapida del contenuto in acqua, qualora si disponga di una sufficiente quantità di materiale. Il metodo non è però molto sensibile e il volume minimo di acqua misurabile è di circa 0,1 mL.

Il metodo si basa sulla distillazione azeotropica dell'acqua in miscela con il toluene (per azeotropo si intende una miscela di due o più liquidi che per ebollizione dà luogo alla formazione di un vapore di composizione uguale a quella della fase liquida)

I vapori misti di acqua e toluene vengono condensati in un refrigerante verticale; poiché l'acqua non è miscibile con il toluene ed è più densa di esso, si separa e va a raccogliersi al fondo di un tubo graduato in mL e decimi di mL (apparecchio di Marcusson), mentre il toluene, che galleggia sopra di essa, ritorna nel pallone da distillazione.

Reattivi: Toluene,
pomice in granelli.

Vetreteria: pallone 250 mL ;
cilindro graduato ed imbuto;
braccio di distillazione del Marcusson;
refrigerante a bolle.

Procedimento: nel pallone dell'apparecchio si introducono, curando di non sporcare il collo, 10 g di conserva pesati con l'approssimazione al centigrammo. Si aggiungono 200 mL di toluene e un granello di pomice, si monta l'apparecchio e si fa circolare l'acqua nel refrigerante.

Si fa bollire il toluene fino a che, nella parte graduata dell'apparecchio di Marcusson, l'acqua raccolta non aumenta più di volume e il liquido che ritorna nel pallone è limpido.

Si sospende allora il riscaldamento, si lava il refrigerante con poco toluene, per staccare le goccioline di acqua aderenti ad esso e si legge il volume di acqua raccolto. Si riferisce la quantità di acqua raccolta a 100 g di sostanza analizzata.

Apparecchio di Marcusson



3.2 Determinazione degli zuccheri mediante l'indice di rifrazione

La scala Brix (%).

Il grado Brix misura la concentrazione in percentuale del contenuto solido solubile in un campione (soluzione acquosa). Questo dato è il risultato della somma di tutti i solidi disciolti nell'acqua (zuccheri, sali, proteine, acidi ed altre sostanze). Fondamentalmente il grado Brix è calibrato sui grammi di zucchero di canna (saccarosio) contenuti in 100 g di soluzione, per questo motivo quando si misurano gli zuccheri il grado Brix né misura perfettamente la concentrazione reale.

Soltanto nel caso che la sostanza in esame contenga altri composti, di natura diversa, occorrerà confrontare il dato ottenuto con una Tabella di conversione che permetta di correggere il risultato.

Concentrazione in % Brix di frutta, succhi di frutta bevande ed alimenti

	<i>CONCENTRAZIONE %</i>	
FRUTTA, SUCCHI DI FRUTTA BEVANDE	Arance, Pere	6÷13%
	Pomodoro	3÷6%
	Mele, meloni	12÷15%
	Fragole, Pesche	6÷12%
	Acini d'uva	13÷24%
	Succhi di frutta concentrati	42÷68%
	Succhi di frutta	12÷18%
	Passato di Pomodoro	7÷16%
	Succo di Pomodoro	5÷9%
	Bevande gassate	6÷15%
	Nettare	16÷23%
	Bevande con Acido Lattico	16,5÷21,5%
	Latte condensato	52÷68%
	Zucchero liquido	58÷80%
Frutta in scatola	14-28%	
ALIMENTI	Tuorlo d'uovo	45÷48%
	Latte	12÷17%
	Marmellata, Farina	60÷70%
	Oli vegetali	57÷90%

Correlazione tra gradi Brix e indice di rifrazione

Gradi Brix %	η_D	Gradi Brix %	η_D
0	1,33299	48	1,41592
1	1,33442	49	1,41799
2	1,33586	50	1,42009
3	1,33732	51	1,4222
4	1,33879	52	1,42432
5	1,34026	53	1,42647
6	1,34175	54	1,42862
7	1,34325	55	1,4308
8	1,34476	56	1,43299
9	1,34629	57	1,4352
10	1,34782	58	1,43743
11	1,34937	59	1,43967
12	1,35093	60	1,44193
13	1,3525	61	1,4442
14	1,35408	62	1,4465
15	1,35568	63	1,44881
16	1,35729	64	1,45113
17	1,35891	65	1,45348
18	1,36054	66	1,45584
19	1,36218	67	1,45822
20	1,36384	68	1,46061
21	1,36551	69	1,46203
22	1,3672	70	1,46546
23	1,36889	71	1,4679
24	1,3706	72	1,47037
25	1,37233	73	1,47285
26	1,37406	74	1,47535
27	1,37582	75	1,47787
28	1,37758	76	1,4804
29	1,37936	77	1,48295
30	1,38115	78	1,48552
31	1,38296	79	1,4881
32	1,38478	80	1,49071
33	1,38661	81	1,49333
34	1,38846	82	1,49597
35	1,39032	83	1,49862
36	1,3922	84	1,50129
37	1,39409	85	1,50398
38	1,396	86	1,50671
39	1,39792	87	1,50944
40	1,39986	88	1,51219
41	1,40181	89	1,51496
42	1,40378	90	1,51775
43	1,40576	91	1,52056
44	1,40776	92	1,52338
45	1,40978	93	1,52622
46	1,40181	94	1,52909
47	1,41385	95	1,53196

NOTE - Introduzione alla rifrattometria

La rifrazione della luce da parte di una sostanza è un fenomeno di dispersione della radiazione elettromagnetica paragonabile alla riflessione ed alla diffusione. Per misurare l'indice di rifrazione vengono impiegati degli strumenti chiamati rifrattometri.

L'indice di rifrazione viene misurato con tre diversi metodi:

1. deviazione minima,
2. angolo limite,
3. riflessione totale.

Il rifrattometro di Abbe (che sarà utilizzato nell'esercitazione) sfrutta il metodo dell'angolo limite

Indice di rifrazione

L'indice di rifrazione viene determinato mediante il rifrattometro di Abbé. Il rifrattometro di Abbé è composto da due prismi separati di circa 0,15 mm, all'interno di questo spessore viene posta la sostanza da esaminare. Il valore alla frequenza del sodio, si legge direttamente dallo strumento. Il valore espresso come apice si riferisce alla temperatura alla quale deve essere eseguita la lettura, mentre quello espresso come pedice si riferisce alla frequenza a cui la lettura è eseguita, generalmente la riga gialla del sodio (D).

Esecuzione

Preliminarmente si controlla la taratura dello strumento leggendo l'indice di rifrazione dell'acqua distillata a diverse temperature

$$(\eta_D^{10} = 1,3337 \quad \eta_D^{20} = 1,3330 \quad \eta_D^{30} = 1,3320 \quad \eta_D^{40} = 1,3307)$$

Accendere la lampada al sodio ed aspettare qualche minuto affinché l'emissione sia costante. Separare i prismi aprendo il morsetto, deporre una goccia del liquido del quale si vuole determinare l'indice di rifrazione e richiudere con il morsetto i prismi. Guardando nell'oculare posto nella parte inferiore si osservano una banda chiara ed un banda scura regolare. Mediante la manopola laterale, allineare i prismi con la lampada al sodio in modo tale che la linea di demarcazione tra le frange coincida con il centro del reticolo. Leggere sull'oculare più piccolo direttamente il valore dell'indice di rifrazione.

Taratura del rifrattometro di Abbé

Due viti diametralmente opposte, situate esternamente sul cannocchiale presso i due prismi, permettono di provvedere di tanto in tanto la taratura dell'apparecchio secondo le norme che seguono.

Ponendo dell'acqua distillata fra i due prismi (sia lo strumento che l'acqua dovranno essere alla temperatura ambiente di 20°C) la linea di separazione fra il campo luminoso e quello scuro dovrà essere in corrispondenza dello zero. Qualora invece la lettura sia diversa dallo zero sarà necessario procedere alla taratura dell'apparecchio. Se la linea di separazione è al di sotto dello zero, con un cacciavite si allenta lentamente la vite di regolazione inferiore e si avvita quella superiore fino a far coincidere detta linea con lo zero della scala. Si esegue invece l'operazione inversa qualora la linea si sia spostata al di sopra dello zero e precisamente in tale caso si allenta la vite superiore e si avvita quella inferiore.

TABELLA di CHATWAY

Indice di rifrazione a 20°C	%reale di acqua	Indice di rifrazione a 20°C	%reale di acqua
1,5041	13,0	1,4910	18,2
1,5035	13,2	1,4905	18,4
1,5030	13,4	1,4900	18,6
1,5025	13,6		
1,5020	13,8	1,4895	18,8
1,5015	14,0	1,4890	19,0
1,5010	14,2	1,4685	19,2
1,5005	14,4	1,4880	19,4
1,5000	14,6	1,4876	19,6
		1,4871	19,8
1,4995	14,8	1,4866	20,0
1,4990	15,0	1,4862	20,2
1,4985	15,2	1,4858	20,4
1,4980	15,4	1,4853	20,6
1,4975	15,6	1,4849	20,8
1,4970	15,8	1,4844	21,0

TABELLA DI CORREZIONE DELLA TEMPERATURA

Residuo Secco %	Temperature in °C									
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	sottrarre (-)									
0	0,50	0,46	0,42	0,37	0,33	0,27	0,22	0,17	0,12	0,06
5	0,54	0,49	0,45	0,40	0,35	0,25	0,24	0,16	0,13	0,06
10	0,58	0,53	0,48	0,42	0,37	0,31	0,25	0,19	0,13	0,06
15	0,61	0,55	0,50	0,44	0,39	0,33	0,26	0,20	0,14	0,07
20	0,64	0,58	0,52	0,46	0,40	0,34	0,27	0,21	0,14	0,07
25	0,66	0,60	0,54	0,48	0,41	0,34	0,28	0,21	0,14	0,07
30	0,68	0,62	0,56	0,49	0,42	0,35	0,28	0,21	0,14	0,07
35	0,70	0,64	0,57	0,50	0,43	0,36	0,29	0,22	0,15	0,08
40	0,72	0,65	0,58	0,51	0,44	0,37	0,30	0,22	0,15	0,08
45	0,73	0,66	0,59	0,52	0,45	0,37	0,30	0,23	0,15	0,08
50	0,74	0,67	0,60	0,53	0,45	0,38	0,30	0,23	0,15	0,08
55	0,75	0,68	0,61	0,54	0,46	0,39	0,31	0,23	0,16	0,08
60	0,76	0,69	0,61	0,54	0,46	0,39	0,31	0,23	0,16	0,08
65	0,78	0,70	0,63	0,55	0,47	0,40	0,32	0,24	0,16	0,08
70	0,79	0,71	0,63	0,55	0,48	0,40	0,32	0,24	0,16	0,08
80	0,81	0,73	0,63	0,56	0,49	0,41	0,33	0,24	0,17	0,08

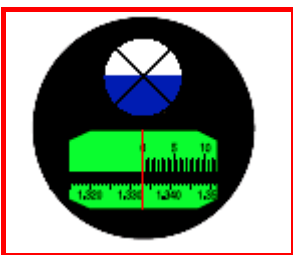
Residuo Secco %	Temperature in °C									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	addizionare (+)									
0	0,06	0,13	0,20	0,26	0,33	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73
5	0,07	0,13	0,20	0,27	0,35	0,42	0,50	0,57	0,66	0,74
10	0,07	0,14	0,21	0,28	0,36	0,43	0,52	0,60	0,68	0,77
15	0,07	0,14	0,22	0,29	0,37	0,44	0,53	0,61	0,69	0,78
20	0,07	0,15	0,22	0,30	0,38	0,45	0,54	0,62	0,71	0,79
25	0,08	0,15	0,23	0,30	0,38	0,46	0,55	0,63	0,72	0,80
30	0,08	0,15	0,23	0,31	0,39	0,47	0,55	0,64	0,72	0,80
35	0,08	0,15	0,23	0,31	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
40	0,08	0,15	0,23	0,31	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
45	0,08	0,16	0,24	0,31	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
50	0,08	0,16	0,24	0,31	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
55	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
60	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
65	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
70	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81
80	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,73	0,81



Rifrattometro di Abbé con sistema di termostattizzazione



Rifrattometro di Abbé



Visione dall'oculare del rifrattometro di Abbé

4. ANALISI DEL LATTE

4.1 Determinazione del peso specifico

Il latte può essere considerato un'emulsione olio in acqua (O/A) in quanto la fase lipidica si trova dispersa in quella acquosa. Il suo peso specifico dipende quindi da quello del grasso e della soluzione acquosa. Se il contenuto in grasso, il cui peso specifico è circa 0,93, diminuisce, il peso specifico del latte aumenta. Questo fatto può compensare un suo eventuale abbassamento dovuto per esempio ad aggiunta di acqua.

La determinazione del peso specifico (comunemente, ma non correntemente, detto anche "densità") si esegue, di solito con il **lattodensimetro di Quevenne**, che è un aerometro sulla cui asticella graduata si leggono i valori da 1,014 a 1,042. L'asticella è graduata in 16 divisioni da 25 a 40 che indicano la seconda e la terza cifra decimale del peso specifico per cui la cifra intera è sempre 1 e la prima decimale sempre 0; se si legge per es. 32, significa che il peso specifico è 1,032).

La lettura viene eseguita tralasciando con l'occhio il punto di affioramento; con un po' di esperienza si può apprezzare con discreta approssimazione, fino alla quarta cifra.

Il peso specifico diminuisce con l'aumentare della temperatura e viceversa. Convenzionalmente la temperatura del latte alla quale si determina il peso specifico è di + 15 °C per cui il lattodensimetro è munito di un termometro la cui scala si trova al di sopra della scala graduata su cui si legge il peso specifico. In sede di analisi si cerca di eseguire la lettura a questa temperatura. Se la temperatura non è di 15 °C, ma se ne discosta di non più di $\pm 5^\circ$, non è necessario scaldare o raffreddare il latte, ma è sufficiente eseguire una correzione del valore letto mediante la seguente espressione:

$$d_{15^\circ\text{C}} = d_{t^\circ\text{C}} + 0,0002 [t (^\circ\text{C}) - 15]$$

Per ogni grado di temperatura inferiore o superiore a 15 °C, si apporta una correzione che consiste nell'aumentare la quarta cifra del peso specifico per ogni grado centigrado superiore a 15 °C, e nel sottrarre lo stesso valore per ogni grado centigrado in meno. Se per esempio si legge un peso specifico di 1,0322 alla temperatura di 17 °C, la densità a 15 °C dovrà essere così corretta : $1,0322 + 0,0004 = 1,0326$.

Procedimento: si versa il latte, dopo aver rimescolato, in un cilindro di vetro, evitando la formazione di schiuma e si introduce il lattodensimetro evitando che tocchi le pareti del cilindro e il fondo del cilindro.

Dopo un paio di min. si osserva la temperatura e si legge il p.ps. curando che la visuale passi sulla superficie libera del latte ed incontri perpendicolarmente l'asta del lattodensimetro.

Al fine di determinare l'annacquamento sono riportate due scale, una gialla ed una azzurra, che indicano la percentuale di acqua aggiunta al latte (la scala gialla serve per il latte intero, quella azzurra per quello scremato).

A norma di legge, il peso specifico del latte a 15 °C deve essere compreso tra 1,029 e 1,034.

4.2 Determinazione dell'acidità del latte - metodo Soxhlet-Henkel

Il pH del latte fresco è circa 6,4÷6,6; quando scende al di sotto di 6,45 in genere è iniziata la fermentazione, che è già molto avanzata con un valore di 6,15.

L'acidità del latte fresco è quindi molto debole con un valore medio di 0,15÷0,16% (da 0,10 a 0,22%) espressa in acido lattico. Acidità maggiori possono indicare una massiccia carica batterica nonché la tendenza del latte a deteriorarsi per acidificazione sino a coagulare.

La determinazione dell'acidità del latte fornisce un'indicazione del suo stato di conservazione. Il controllo dell'acidità è anche importante per il latte destinato ai caseifici (se è eccessiva si ha difficoltà nella lavorazione del formaggio) oltre che per quello destinato all'uso alimentare diretto (se è acido, per riscaldamento coagula).

La determinazione può essere eseguita con un titolatore automatico che esegue la titolazione ad indicazione finale potenziometrica (il punto di viraggio della titolazione è indicato da una brusca variazione d.d.p. tra due elettrodi uno di riferimento e l'altro di misura) o fotometrica (eseguita impiegando una sonda fotometrica immersa nel campione, questa sonda sensibile alle variazioni di colore misura direttamente il punto di viraggio della fenolftaleina).

Solitamente si impiega il metodo **Dornic** con il quale viene titolato solamente l'acido lattico e non l'acidità totale. Come titolante si impiega una soluzione di NaOH 1/9 N, 1 mL di tale soluzione corrisponde a 10 mg di acido lattico, 1 °D = 0,1 g di acido lattico. Si può accettare un latte per l'alimentazione o la caseificazione se non supera i 17,5 °D.

L'acidità totale può anche essere espressa in °SH (Soxhlet-Henkel) che corrispondono ai mL di NaOH 0,25 N necessari a portare 100 mL di latte a pH 8,3. Un latte di qualità presenta una acidità totale pari a 6,5÷7,5 °SH.

Un latte fresco pastorizzato di alta qualità deve avere un contenuto in acido lattico $0 = a 30 \text{ ppm}$ (D.M. 185 del 1991).

Reattivi: soluzione alcolica di fenolftaleina,
soluzione di NaOH N/4 (0,25 N).

Vetreteria: buretta 50 mL classe A;
beuta da titolazione da 250 mL;
agitatore magnetico.

Procedimento: con una buretta si prelevano 50 mL di latte, che vengono quantitativamente trasferiti in una beuta da 250 mL, si aggiungono 2 mL di fenolftaleina, si pone la beuta su di un agitatore magnetico, si inserisce l'ancoretta, e si titola con NaOH 0,25 N sino a colorazione rosa persistente. Il numero di mL di NaOH 0,25 N necessari per neutralizzare 100 mL di latte rappresentano il grado di acidità espresso in gradi SH. Per un buon latte tale valore è compreso tra 7 e 8 e mai inferiore a 6,5 e superiore a 8.

4.3 Determinazione della sostanza grassa del latte

Per tale determinazione si può impiegare il metodo volumetrico di Gerber.

Il **butirrometro di Gerber** è costituito da un tubo di vetro particolare con una estremità stretta chiusa e l'altra munita di un tappo in gomma. La parte più stretta del tubo è graduata ed ogni divisione corrisponde allo 0,1% di materia grassa presente nel latte.

Questa analisi permette di verificare se il latte è rispondente per quanto concerne la materia grassa a quanto disposto dalle vigenti norme di legge.

Reattivi: acido solforico con densità 1,82 a 15 °C (90÷91%),
alcol amilico con densità 0,815÷0,818 (p.eb. 124÷130 °C).

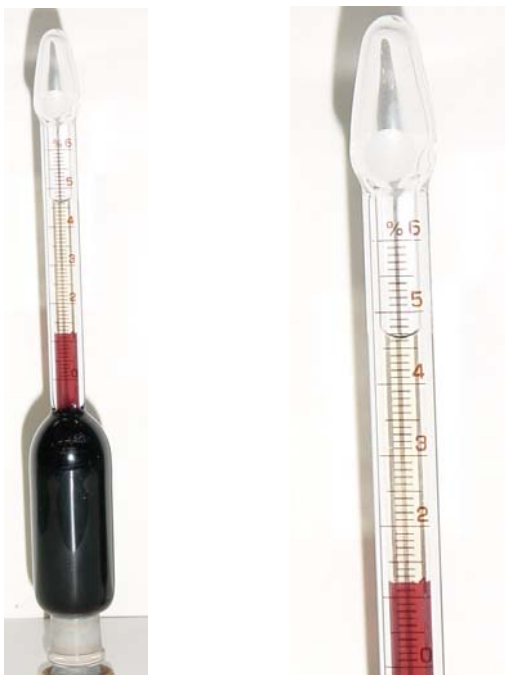
Vetreteria: butirrometri per latte vaccino;
tappi e levatappi;
centrifuga per il Gerber;
pipette graduate e propipetta

Procedimento: l'analisi viene eseguita in doppio impiegando due butirrometri. In entrambi i butirrometri si introducono, mediante l'ausilio di una pipetta, 10 mL di acido solforico (**attenzione l'acido è concentrato!! Non bagnare le pareti del butirrometro!!!**) e 11 mL di latte avendo cura che esso si stratifichi sull'acido senza mescolarsi, si aggiunge infine 1 mL di alcol amilico. Si tappano i butirrometri con gli

appositi tappi di gomma (*utilizzare l'apposito attrezzo!*). Si agita (capovolgere più volte il butirrometro). Si avrà un forte sviluppo di calore e la miscela si colorerà in bruno. Si pongono quindi i butirrometri in un bagno maria a $65 \div 70$ °C per 10 min.. Trascorso tale periodo, si asciugano esternamente i butirrometri e si pongono nell'apposita centrifuga con la parte graduata del butirrometro verso l'alto. Si centrifuga per 2 min. quindi si ripongono i butirrometri nel bagno-maria per circa 5 min. (*con in basso e la parte graduata verso l'alto*). Si esegue quindi la lettura sulla parte graduata.

La percentuale di grasso, secondo la normativa vigente, non deve essere, per il latte intero, inferiore al 3,2%, per il latte parzialmente scremato, tra 1 e 1,80 %, per il latte scremato il limite massimo è dello 0,5%.

Butirrometro di Gerber



5. ANALISI DEL BURRO

5.1 Determinazione del numero degli acidi volatili solubili in acqua

Il **numero di acidi grassi volatili solubili** è il numero di milligrammi di KOH necessari a neutralizzare gli acidi grassi volatili solubili in acqua ottenuti, in opportune condizioni, da 1 grammo di materia grassa.

Il contenuto di acidi volatili e solubili si può indicare anche con il **numero di Reichert-Meissi-Wollny (R.M.W.)** che corrisponde al numero di mL di KOH 0,1 N necessari per neutralizzare tali acidi ottenuti, in opportune condizioni, da 5 g di materia grassa priva di acqua.

Tra i vari acidi grassi, presenti sotto forma di gliceridi nella sostanza grassa, alcuni **non** sono **volatili** con il vapore (acido palmitico, acido stearico, acido oleico, acido laurico, acido miristico, acido linoleico, ecc.); altri (acido acetico, acido butirrico, acido caprinico, acido caprilico, acido capronico) sono invece **volatili** e quindi passano nel distillato. Tra gli acidi volatili, l'acetico e il butirrico sono **solubili in acqua**, gli altri invece sono praticamente **insolubili**. Pertanto eseguendo una distillazione in corrente di vapore si separeranno gli acidi non volatili da quelli volatili e mediante una filtrazione sarà poi possibile separare quest'ultimi in solubili e non solubili in acqua e quindi procedere alla loro titolazione.

Un burro genuino deve avere un contenuto in grasso non inferiore all'82% e un numero di R.M.W. compreso tra 26 e 32: di solito esso è di circa 30.

Reattivi: glicerolo,
acido solforico N (26 mL di acido concentrato sono portati ad 1 l con acqua distillata),
fenolftaleina (soluzione alcolica all'1%),
NaOH al 44% circa in peso ($d = 1,47$),
KOH 0,1 N (soluzione titolata),
pomice in granelli (diametro $1,5 \div 2$ mm).

Procedimento: per ottenere il burro anidro lo si fonde in stufa a $60 \div 70$ °C e lo si filtra, sempre in stufa, attraverso un filtro a pieghe asciutto.

Si pesano, alla bilancia di precisione, 5 g di sostanza grassa entro un cartoccio di carta oleata e si introducono nel matraccio dell'apparecchio, senza sporcarne il collo. Si aggiungono quindi 20 g (16 mL) di glicerolo, pesati alla bilancia tecnica, e 2 mL di NaOH al 44%, indi si scalda, **sotto cappa**, (**CAUTAMENTE!!**) su piccola fiamma, fino a che la miscela diventi perfettamente omogenea e limpida (non si deve più notare lo

strato giallo di grasso fuso non saponificato galleggiare sopra lo strato incolore della glicerina). A questo punto la miscela schiumeggia in modo caratteristico, formando bolle piccole ed uniformi (occorrono circa 10÷15 min.). Si lascia raffreddare fino a circa 90 °C, poi si aggiungono 93 mL di acqua distillata calda (80÷90 °C) previamente bollita; si scalda, se necessario, in modo da ottenere una soluzione limpida, indi, a soluzione avvenuta, si aggiungono 50 mL di acido solforico N e qualche granello di pomice.

Il matraccio, facente parte dell'apparecchiatura di distillazione, è appoggiato su di una placca dello spessore di 6 mm, avente un diametro di 12 cm, con un foro centrale circolare di 6,5 cm di diametro (si utilizza questa placca, anziché una reticella di ceramica, onde localizzare il riscaldamento sul fondo del matraccio).

Si connette questo matraccio con l'apparecchiatura (tutte le dimensioni dell'apparecchiatura sono rigorosamente fisse e standardizzate) e si scalda moderatamente fino a che gli acidi grassi galleggino in strato limpido; quindi si distilla, regolando il riscaldamento in modo da raccogliere 110 mL di distillato nel matraccio tarato, graduato a 100 e 110 mL, in un tempo che varia dai 19 ai 21 min. (oltre alle dimensioni dell'apparecchiatura è fissato anche il tempo di distillazione: devono passare 5,5 mL/min).

Si considera come inizio della distillazione l'istante in cui dal tubo di raccordo cade la prima goccia nel refrigerante.

Al termine della distillazione, senza agitare, si immerge il matraccio in un beaker contenente acqua a 15 °C per 10 min., indi si rimescola il distillato, capovolgendo il matraccio 4÷5 volte, evitando un'agitazione troppo forte.

Si filtra quindi per filtro asciutto e liscio di 8 cm di diametro, raccogliendo il filtrato in un matraccio tarato da 100 mL fino al segno. Si conserva il filtro, il matraccio da 110 mL e il beaker per la determinazione del numero di Polenske.

Si travasano i 100 mL di filtrato quantitativamente in una beuta da 250 mL, si aggiungono alcune gocce di fenolftaleina e si titola con KOH 0,1 N. I mL richiesti, aumentati del 10% (infatti si sono titolati solo 100 dei 110 mL distillati), costituiscono il numero di Reichert-Meissi-Wollny. (In realtà sarebbe sempre necessario fare una prova "in bianco", cioè senza sostanza grassa, ma con tutti gli altri reattivi impiegati nelle stesse quantità sopra indicate, e sottrarre i mL di KOH 0,1 N impiegati nella prova in bianco da quelli impiegati nella titolazione del distillato. La saponificazione, nella prova in bianco, è sostituita dal riscaldamento su bagno maria bollente per 15 min.).

5.2 Determinazione degli acidi volatili insolubili in acqua

Il contenuto in acidi grassi volatili insolubili si può indicare mediante il **numero di Polenske** corrispondente al numero di mL di KOH 0,1 N necessari per neutralizzare gli acidi grassi volatili insolubili ottenuti, nelle condizioni descritte, da 5 g di materia grassa priva di acqua.

Il burro genuino ha un valore del numero di Polenske compreso tra 2 e 3,5, l'olio di palma tra 10 e 13, l'olio di cocco tra 14 e 17.

Reattivi: *alcol etilico di 90° (previamente neutralizzato alla fenolftaleina),
Fenolftaleina,
KOH 0,1 N (soluzione titolata).*

Procedimento: *si lavano tre volte, con circa 15 mL di acqua ogni volta, il refrigerante, il matraccio da 110 mL, il beacker e il filtro contenente gli acidi volatili insolubili rimasti dalla determinazione del numero di R.M.W., facendo passare tutte le acque di lavaggio sul filtro e riempiendo ogni volta il filtro fino all'orlo, onde ottenerne un lavaggio completo.*

Si gettano le acque di lavaggio filtrate e si lavano tre volte, con 15 mL di alcol etilico ogni volta, il refrigerante, il beacker e il matraccio da 110 mL. L'alcol si fa passare sul filtro e si raccoglie in una beuta.

Il liquido così raccolto si titola con KOH 0,1 N, impiegando come indicatore la fenolftaleina. I mL di KOH 0,1 N necessari per la titolazione rappresentano il numero di Polenske.

5.3 Determinazione del grado rifrattometrico

L'**indice di rifrazione** è una costante fisica caratteristica di ciascun lipide ed è dato dal rapporto tra il seno dell'angolo di incidenza e quello dell'angolo di rifrazione di un raggio di luce monocromatica (per es. la linea D del sodio) che passa dall'aria alla sostanza in esame. Esso si indica con il simbolo n_D . Gli apparecchi per la misura dell'indice di rifrazione sono detti rifrattometri. Esempi di rifrattometri sono quello di Abbé e quello di Zeiss.

(**N.B.** su alcuni rifrattometri si leggono i gradi rifrattometrici ad esempio 45-46 attraverso le apposite Tabelle sarà poi possibile ricavare l'indice di rifrazione)

Per il burro l'indice di rifrazione è, a +35 °C, compreso tra 1,4552 e 1,4567, mentre il grado rifrattometrico è compreso tra 44 e 48..

Per **grado rifrattometrico** di un grasso s'intende l'indice di rifrazione del grasso espresso in gradi empirici. Esso viene misurato mediante uno speciale rifrattometro, detto **butirrorifrattometro**.

Nel burrorifrattometro di Zeiss la lettura si esegue in corrispondenza dell'intersezione tra la scala e la linea di separazione tra campo scuro e campo illuminato.

Procedimento: Per fare l'osservazione si pongono tra i due prismi (puliti con un pezzetto di carta da filtro imbevuta in etere) due gocce di grasso fuso e filtrato: Richiusi i prismi mediante la vite a pressione, si porta alla temperatura di 35 °C mediante la circolazione d'acqua termostata dall'ultratermostato, quindi si esegue la lettura.

Si puliscono quindi i prismi mediante un pezzetto di carta da filtro imbevuta in etere. La scala dello strumento può essere controllata ponendo tra i prismi una goccia di liquido ad indice di rifrazione noto (bromonaftalina).

5.4 Determinazione quantitativa della sostanza grassa del burro

Per tale determinazione si possono impiegare sia metodi ponderali sia volumetrici. Il metodo ponderale di Soxhlet si basa sull'estrazione della sostanza grassa del campione con etere etilico o diclorometano. Il campione deve essere preventivamente essiccato in stufa a circa 102 °C per 2÷3 ore, e successivamente disidratato su solfato di sodio anidro. Dopo un'estrazione protratta per circa 10 ore, eliminato il solvente si pesa l'estratto contenuto nel pallone precedentemente tarato. Il metodo volumetrico di Gerber, anche se in parte superato, si basa sull'impiego del butirrometro.

6. ANALISI DELL'OLIO DI OLIVA

6.1 Determinazione dell'acidità

Il **numero di acidità** (che deve essere determinato sul lipide privo di acqua) è dato dal numero di milligrammi di KOH necessari per neutralizzare gli acidi liberi contenuti in 1 g di sostanza grassa. Si tratta evidentemente di un indice analitico di grande interesse per stabilire lo stato di conservazione dei grassi e per valutare la loro qualità. Infatti la quantità di acidi liberi presenti aumenta evidentemente con il grado di idrolisi dei trigliceridi.

L'acidità del lipide viene anche espressa come **percentuale di acidi liberi** calcolati come **acido oleico**.

Particolare interesse ha la determinazione dell'acidità oleica per gli oli vergini di oliva i quanto essi per legge sono classificati:

olio extra vergine di oliva: acidità come acido oleico massima 1%,

olio sopraffino vergine di oliva: acidità come acido oleico massima del 1,5%.

Reattivi: *alcol etilico di 95°,
etere etilico,
fenolftaleina (soluzione alcolica all'1%),
miscela 1:1 di alcol etilico di 95° ed etere etilico neutralizzata (si
aggiungono 2 gtt di fenolftaleina e KOH 0,1 N fino a colorazione rosea),
KOH 0,1 N (soluzione titolata).*

Vetreteria: *buretta 25 mL classe A;
beute da titolazione da 250 mL;*

Procedimento: *si pesano esattamente alla bilancia di precisione, in un tubetto posto in un pesafiltri, 5 g circa di sostanza (olio, in questo caso), previamente pesati alla bilancia tecnica.*

*Il **tubetto** con la sostanza, esattamente pesata, **si introduce**, in circa 150 mL della miscela neutralizzata di alcol e etere e si agita. A dissoluzione avvenuta si aggiunge qualche goccia di fenolftaleina e si titola con la soluzione 0,1 N di KOH, agitando bene il liquido, soprattutto se si ha la separazione in due strati.*

L'acidità si dovrà esprimere in g di acido oleico in 100 g di lipide oppure come numero di acidità ovvero i mg di KOH necessari per neutralizzare gli acidi grassi liberi presenti in 1 g di olio.

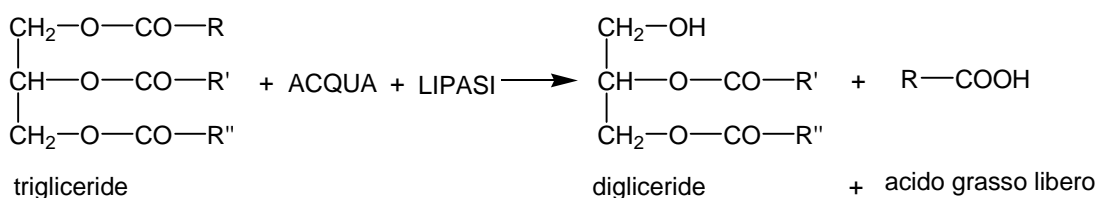
Note -Acidità libera

L'olio di oliva è costituito per la quasi totalità (98-99%) da trigliceridi, cioè esteri formati da glicerina e acidi grassi a lunga catena (prevalentemente 16 e 18 atomi di carbonio).

Una parte degli acidi grassi, tuttavia, si trova allo stato libero (cioè non legato alla glicerina) ed è proprio questa frazione, di solito molto piccola, che determina l'acidità libera di un olio.

La misura dell'acidità di un olio è probabilmente la più antica e più diffusa determinazione cui si fa riferimento per la classificazione merceologica. Sebbene da sola non sia sufficiente a definire compiutamente la qualità di un olio, fornisce tuttavia elementi utili a valutare lo stato delle olive al momento della loro trasformazione. L'aumento dell'acidità libera infatti è dovuto essenzialmente ad un enzima specifico, la lipasi, che è presente nell'oliva ed esercita la sua attività nel momento in cui entra in contatto con l'olio.

In condizioni normali l'olio presente nell'oliva è contenuto in vacuoli che proteggono con una membrana ogni singola gocciolina microscopica. Quando, per cause accidentali o per la frangitura, i vacuoli si rompono, l'olio entra in contatto con l'enzima che esercita la sua attività secondo lo schema:



L'azione della lipasi può continuare anche a carico dei digliceride, liberando ancora più acidi grassi. L'attività dell'enzima è favorita da temperature relativamente alte e raggiunge il massimo intorno ai 35÷40 °C, mentre si riduce con il decrescere della temperatura fino ad arrestarsi intorno a 0 °C. Comunque l'aumento dell'acidità libera di un olio può avere luogo fin quando nel mezzo sono presenti l'enzima e l'acqua. Dunque è importante assicurare la massima integrità delle olive sia nella fase di raccolta sia durante il trasporto e la conservazione prima della frangitura; è poi fondamentale la tempestività e il controllo delle condizioni termiche nelle fasi di lavorazione della pasta e nel corso dell'estrazione, è essenziale infine la perfetta separazione finale olio-acqua di vegetazione.

6.2 Numero di iodio

Per **numero di iodio** o più precisamente **numero di iodio relativo** di un grasso si intendono i grammi di iodio fissati, in particolari condizioni, da 100 g di lipide (essiccato e filtrato). Per numero di **iodio assoluto** o **interno**, si intendono i grammi di iodio fissati da 100 g di acidi grassi liquidi ovvero da quegli acidi grassi i cui sali di piombo, in particolari condizioni, sono solubili in etanolo di 95°.

Lo iodio o i suoi derivati alogenati quali il cloruro o il bromuro di iodio si aggiungono ai doppi legami degli acidi grassi insaturi. La quantità di iodio fissata,

ovvero il numero di iodio, varia, per ciascun lipide di sicura genuinità, entro ristretti limiti. Questo parametro rappresenta quindi una costante analitica di elevato interesse in particolare per gli oli.

Sulla base delle loro proprietà gli oli possono essere suddivisi in oli **siccativi**, **semisiccativi** e non **siccativi**. Tale divisione è basata sulla proprietà di rapprendersi se esposti all'aria in strato sottile. Questa proprietà dipende dalla ossidazione e resinificazione dovuta alla elevata presenza di doppi legami.

A seconda della velocità con cui tale modificazione avviene o no si avrà :
oli siccativi caratterizzati dall'elevata presenza di acidi linoleico e linolenico (ad esempio l'olio di lino e l'olio di canapa). Tali oli presentano un numero di iodio compreso tra 150 e 190,
oli semisiccativi caratterizzati dalla presenza di acidi oleico e linoleico (ad esempio l'olio di sesamo, girasole, colza, cotone). Tali oli presentano un numero di iodio compreso tra 100 e 150,
oli non siccativi nei quali predomina l'acido oleico (ad esempio l'olio di oliva, di arachidi e di mandorle). Tali oli presentano un numero di iodio compreso tra 75 e 100.

Per i grassi solidi il numero di iodio è di norma inferiore ad 80.

Il numero di iodio permette di svelare addizioni fraudolente di oli di basso valore commerciale ad altri oli. La cattiva conservazione o l'invecchiamento ovvero l'irrancidimento - nei quali i doppi legami degli acidi grassi hanno subito una ossidazione - presentano un numero di iodio inferiore a quello dello stesso lipide ben conservato.

Esistono diversi metodi per determinare il numero di iodio, tra questi il metodo ufficiale è il metodo di Wijs.

Il metodo di Wijs prevede l'impiego di una miscela di $ICl_3 + I_2$ in acido acetico glaciale. Questo reagendo successivamente con una soluzione di KI al 10% libera I_2 che si lega ai doppi legami. La quota rimasta libera viene titolata con tiosolfato impiegando come indicatore la salda d'amido

Il numero di iodio varia notevolmente da valori minimi riscontrabili nei lipidi saturi (≤ 25) a valori massimi per alcuni oli di semi (>100).

Questo test pur avendo perso importanza, in quanto superato da metodi di analisi gas-cromatografica rimane pur sempre uno degli indici più significativi della genuinità e della composizione in acidica dei lipidi. L'olio di oliva genuino ha un numero di iodio compreso tra 80 e 88.

Reattivi: *reattivo di Wijs,*
diclorometano o cloroformio,
ioduro di potassio (soluzione acquosa all'10%),
tiosolfato di sodio (soluzione titolata 0,1N),
salda d'amido.

Vetreteria: burette 50 mL classe A;
beute da 500 mL con tappo a smeriglio;
cilindri graduati.

Procedimento: si pesano, alla bilancia analitica, in un tubetto di vetro tarato della capacità di circa 1 g, in base al numero di iodio presunto le seguenti quantità di lipide:

1,0 g per un N.I. presunto da 1 a 30,

0,6 g per un N.I. presunto da 30 a 50,

0,3 g per un N.I. presunto da 50 a 100,

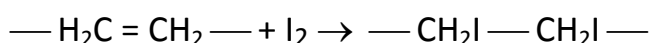
0,2 g per un N.I. presunto da 100 a 150,

0,15 g per un N.I. presunto da 100 a 200.

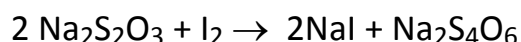
Il **tubetto** viene **introdotto** in una beuta da 500 mL con tappo a smeriglio, si aggiungono 15 mL di diclometano o di cloroformio allo scopo di solubilizzare il lipide. Dopo aver solubilizzato si aggiungono 25 mL esattamente misurati di reattivo di Wijs. Dopo aver tappato con l'apposito tappo di vetro si agita dolcemente e si pone la beuta al buio (ad es. nell'armadietto del bancone). Il tempo di riposo dipende dal tipo di lipide. Circa 1 ora per un grasso od un olio non siccativo, 3 ore per un olio siccativo. Trascorso il termine di riposo si aggiungono 20 mL di KI al 10% e 100 mL di acqua distillata. Si agita e si titola con tiosolfato 0,1 N impiegando come indicatore la salda d'amido (la salda d'amido deve essere addizionata quando il colore della soluzione diventa giallo chiaro). Si deve avere cura di agitare energicamente verso la fine della titolazione. *Contemporaneamente si esegue, nelle stesse condizioni, una prova in bianco. Ovvero utilizzando tutti i reattivi nelle medesime condizioni senza il campione di olio in analisi.*

Reazioni:

1) addizione di iodio al doppio legame:



2) titolazione dell'eccesso di I₂:



Il tiosolfato di sodio (Na₂S₂O₃) viene ossidato a tetratoato di sodio (Na₂S₄O₆) il numero di ossidazione dello zolfo passa da +2 nel tiosolfato a +2,5 nel tetratoato. Il numero di iodio corrisponde ai grammi di iodio fissati da 100 g di lipide.

6.3 Valutazione della rancidità

Il **grado di irrancidimento** ossidativo di un olio (o di un lipide in genere) è rivelabile attraverso i caratteri organolettici, ma può essere meglio valutato (specialmente nel caso di lieve entità e soprattutto nella fase iniziale nella quale si formano idroperossidi inodori) attraverso alcune reazioni analitiche quali la determinazione del numero di perossidi e la ormai abbandonata reazione di Kreiss.

6.4 Determinazione del Numero di Perossidi

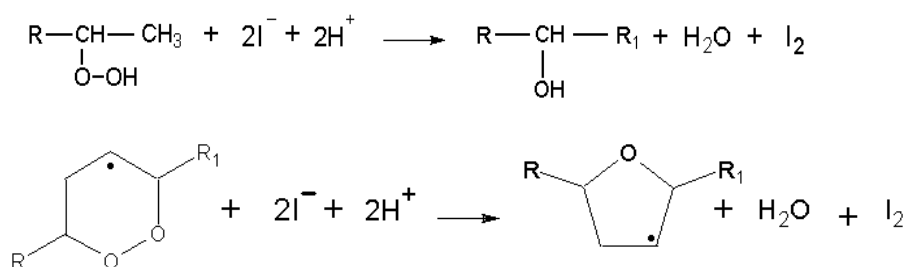
A differenza della reazione Kreiss, che è basata sulla ricerca qualitativa dei prodotti secondari dell'auto-ossidazione, con questa determinazione viene valutato prevalentemente il contenuto di perossidi ovvero dei prodotti primari dell'auto ossidazione dei lipidi.

La determinazione consiste in una titolazione iodometrica con tiosolfato dello iodio liberato per ossidazione di una soluzione di ioduro potassico da parte dei perossidi.

Gli oli di oliva extra vergini di qualità hanno un numero di perossidi inferiore a 10, viene tuttavia considerato commestibile un olio quando il N.P. non supera il limite di 20, valore obbiettivamente elevato. Può verificarsi che per oli in uno stato di avanzato irrancidimento (e come tali non più considerati commestibili sulla base dei soli caratteri organolettici) si constatino valori molto bassi di N.P. in quanto l'auto ossidazione ha già superato la fase primaria e gli idroperossidi hanno subito la demolizione con formazione dei prodotti secondari volatili e maledoranti.

Nel N.P. vengono determinate tutte le sostanze presenti nel lipide in esame che ossidano, nelle condizioni della prova, lo ioduro di potassio. Queste sostanze possono essere costituite non solo da idroperossidi ma anche da perossidi ciclici, e che la formazione del ponte perossidico può avvenire anche a carico dei prodotti di degradazione dei perossidi primari e nella formazione dei polimeri. Quindi in un lipide, all'atto dell'analisi, possono essere presenti contemporaneamente perossidi di diversa natura e con diversa attitudine a lasciarsi ridurre.

La liberazione dello iodio da parte degli idroperossidi e dei perossidi ciclici della fase primaria di autossidazione avviene rapidamente secondo le seguenti reazioni:



Lo iodio liberato si titola con tiosolfato di sodio.

I perossidi che si formano nella fase secondaria dell'autossidazione si riducono più lentamente. Nelle condizioni dell'analisi è quindi possibile determinare iodometricamente tutti i perossidi che si formano nella fase primaria, mentre non è possibile determinare i prodotti di natura perossidica che si formano nella fase secondaria. Alcune cause di errore nella determinazione del NP sono la presenza di ossigeno atmosferico nonché la tendenza dello iodio liberatosi a fissarsi sui doppi legami. Questa seconda causa di errore può essere praticamente annullata titolando lo iodio liberatosi esattamente due minuti dopo l'aggiunta di ioduro di potassio.

Reattivi: miscela acido acetico:cloroformio (3:2 V/V)
ioduro di potassio (soluzione acquosa satura),
tiosolfato di sodio (soluzione titolata 0,01N),
salsa d'amido.

Vetreteria: burette 50 mL classe A;
beuta da 250 mL con tappo a smeriglio;
pipette graduate e pro pipetta;
cilindri graduati.

Procedimento: si pesano, alla bilancia analitica, in un tubetto di vetro tarato della capacità di circa 5 g di olio in esame. Il **tubetto** viene **introdotto** in una beuta da 300 mL con tappo a smeriglio, si aggiungono 25 mL della miscela di acido acetico e cloroformio (3:2 V/V) e 0,5 mL di ioduro di potassio (soluzione acquosa satura). Si diluisce con 25 mL di acqua distillata, si agita e si lascia dopo 2 min. esatti al riparo della luce. Si titola lo iodio liberatosi con tiosolfato di sodio (soluzione titolata 0,01N) in presenza di salsa d'amido quale indicatore.

Il numero di perossidi (N.P.) che esprime in mEq. di ossigeno per 1.000 g di sostanza grassa.

Note - Numero di perossidi

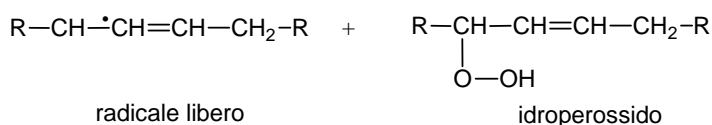
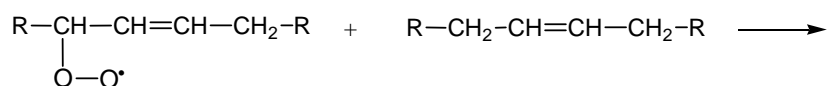
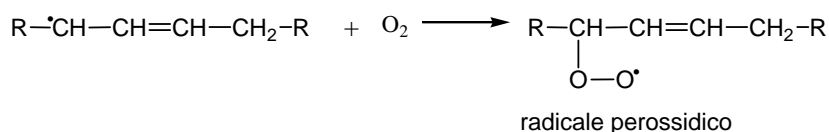
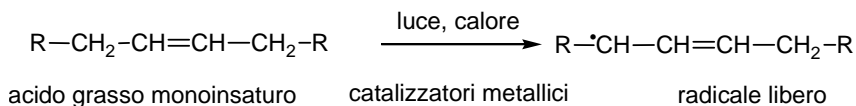
Questo parametro misura lo stato di ossidazione dell'olio. Tutte le sostanze grasse sono sottoposte al fenomeno dell'ossidazione che, se non controllato e limitato, progressivamente altera profondamente la struttura chimica dei trigliceridi, con formazione di composti volatili dall'odore e sapore sgradevole, il rancido (un difetto grave nella valutazione di un olio).

L'ossidazione di un olio dipende da una serie di fenomeni che possono avvenire in due momenti diversi, vale a dire o nel corso delle pratiche colturali, di raccolta, stoccaggio e lavorazione delle olive; o nel corso della conservazione dell'olio.

Lo stesso fenomeno ha, nei due casi, origini diverse. Il numero di perossidi in un olio fresco, appena prodotto, è dovuto all'azione catalitica di un enzima la lipossidasi che è in grado di legare chimicamente l'ossigeno dell'aria agli acidi grassi insaturi dei trigliceridi (ossidazione enzimatica). Come nel caso dell'acidità libera, anche questo fenomeno è favorito dal degrado dello stato sanitario delle olive e, in particolare, da lesioni cellulari del frutto che permettono il collegamento fra l'olio e l'enzima (presente nella fase acquosa) che esercita la propria azione finché vi è contatto

dell'olio con le acque di vegetazione e questo avviene, appunto, nelle fasi di raccolta, stoccaggio e lavorazione delle olive. La temperatura continua a giocare un ruolo importante nell'accelerare o rallentare l'azione dell'enzima, seppure la lipossidasi risulta attiva anche a temperature molto basse (-40 °C). Una delle cause della scadente qualità e dell'elevato numero di perossidi di oli ottenuti da olive è la raccolta tardiva di olive che hanno subito danni da gelo.

L'olio vergine di oliva, al pari di tutte le altre sostanze grasse, è sottoposto comunque a fenomeni di ossidazione chimica, che non necessita dell'azione di enzimi. La semplice presenza dell'ossigeno dell'aria, la luce nonché tracce di metalli possono dar luogo, durante la conservazione dell'olio, a formazione di idroperossidi, secondo un meccanismo che prevede la formazione di radicali liberi.



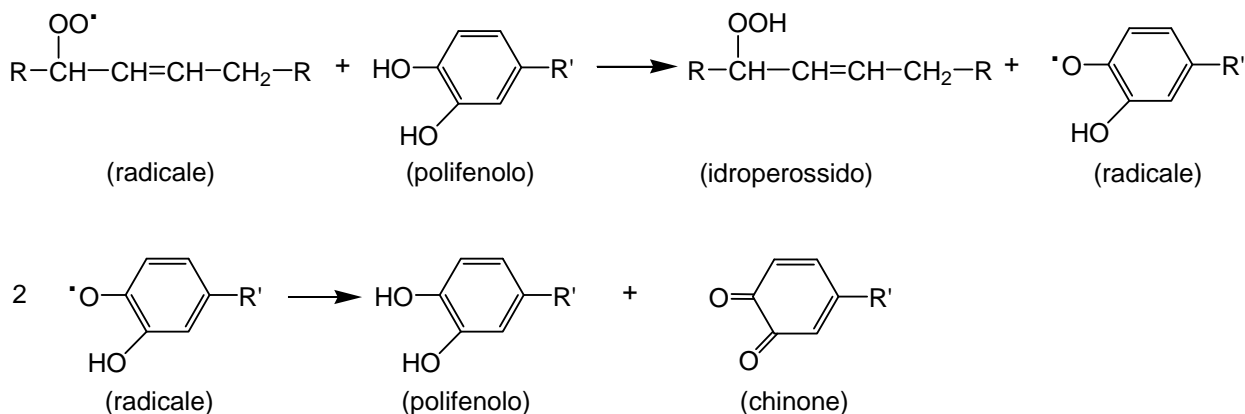
Come si osserva dallo schema, la reazione, una volta iniziata, procede a catena con formazione di nuovi radicali favorita dalla luce, dal calore e dal contatto dell'olio sia con l'ossigeno atmosferico sia con alcuni metalli (ferro, rame, nickel) che agiscono da catalizzatori.

Gli idroperossidi sono molecole molto instabili la cui facile decomposizione dà luogo alla formazione di composti volatili (aldeidi, chetoni, ecc.) responsabili dell'irrancimento.

Un olio che ha un elevato contenuto di idroperossidi tenderà quindi, a parità di condizioni, ad irrancire più rapidamente di un altro che ne contiene una quantità minore. Pertanto risulta ancora una volta l'importanza dei rispetto delle corrette procedure di produzione, dalla coltivazione, alla raccolta, alla frangitura, e di conservazione dell'olio, evitando che esso sia esposto alla luce, all'aria e a temperature superiori a 16÷18 °C.

Fra le sostanze grasse, tuttavia, l'olio vergine di oliva presenta una buona resistenza all'ossidazione in ragione: della sua composizione acidica e del suo contenuto di antiossidanti naturali.

Come accennato, l'ossidazione enzimatica si esplica a carico degli acidi grassi insaturi (caratterizzati dalla presenza di doppi legami fra gli atomi di carbonio della catena). L'olio di oliva contiene un'alta percentuale di acidi monoinsaturi (principalmente acido oleico) e solo pochi poliinsaturi (linoleico e linolenico). Questi ultimi subiscono l'azione dell'ossigeno più velocemente dei primi e questo spiega perché gli oli di semi, che contengono una percentuale molto più alta di acidi poliinsaturi, si conservano meno. Inoltre l'olio vergine di oliva possiede una buona quantità di sostanze fenoliche, caratterizzate da un forte potere antiossidante e perciò in grado di bloccare la formazione dei radicali liberi e perossidici secondo lo schema seguente:



L'importanza del contenuto in polifenoli, che caratterizza gli oli vergini di oliva e particolarmente di quelli cosiddetti fruttati, è un sicuro fattore di qualità in quanto, al di là degli aspetti specificamente organolettici, un olio vergine dall'alto contenuto polifenolico si conserverà meglio e contribuirà, attraverso la sua assunzione nel nostro organismo, a combattere i fenomeni di perossidazione lipidica che si verificano a carico delle membrane cellulari da cui deriva l'invecchiamento dei tessuti e il rischio dell'insorgenza di neoplasie. Per la legislazione un olio extra vergine deve avere una quantità di perossidi massima di 20 meq/O₂/Kg. Oli extra vergini DOP < di 12 meq/O₂/Kg. Oli extra vergini di alta qualità non superano gli 8÷9 meq/O₂/Kg di perossidi.

6.5 Ricerca dei dieni e dei trieni

Questa determinazione analitica consente di differenziare l'olio di oliva vergine dagli oli rettificati e dalle loro miscele. Essa si basa sulla misura dell'assorbimento nell'U.V. dei doppi legami coniugati, nella regione spettrale compresa tra 220 e 280 nm circa, l'olio di oliva vergine non presenta alcun assorbimento caratteristico, contrariamente ai sistemi coniugati che in tale regione presentano tipici massimi di assorbimento. Il sistema dienico, in particolare, presenta un massimo a 232 nm mentre quello trienico a 268 nm.

Negli oli di oliva vergini ed in buon stato di conservazione sono presenti trigliceridi di acidi insaturi, che non presentano alcun assorbimento al di sopra dei 220 nm, e di acidi monoinsaturi (oleico) e poli-insaturi (linoleico e linolenico) che non presentano comunque sistemi coniugati.

I processi di rettifica eseguiti sugli oli lampanti o su quelli di estrazione, nonché i processi di ossidazione dovuti all'invecchiamento o alla cattiva conservazione, determinano lo scorrimento in posizione coniugata dei doppi legami isolati degli acidi poli-insaturi per cui compaiono, nelle zone U.V. sopra indicate, i caratteristici massimi di assorbimento.

Procedimento: si esegue una determinazione spettrofotometrica U.V. di una soluzione di olio in isoottano puro - grado UV. Si pesa una quantità di circa 0,05 g di olio alla bilancia analitica, in matraccio da 10 mL, si porta successivamente a volume

con isoottano e si eseguono quattro letture: a 232 nm (massimo dell'assorbimento dei dieni), a 262, 268, 274 nm (per i trieni). Nell'olio di oliva extra vergine e vergine i picchi di assorbimento non sono evidenziabili, mentre negli oli che hanno subito rettifica (olio di sansa di olive) sono presenti.

Deve essere determinata la ΔK mediante la seguente espressione.

$$\Delta K = K_{268} - \frac{(K_{262} + K_{274})}{2}$$

Dove K è l'assorbanza specifica dell'olio ad una specifica lunghezza d'onda.

Negli oli vergini tale valore non deve essere superiore a 0,010.

N.B. l'isoottano deve essere recuperato!!!

Note - Determinazione spettrofotometrica U.V.

Questo esame, oltre a fornire utili elementi di giudizio sulla qualità di un olio, ha permesso di risolvere definitivamente il problema del riconoscimento dell'olio rettificato eventualmente aggiunto all'olio di oliva vergine, sfruttando il fatto che gli oli naturali di pressione non contengono doppi legami coniugati che invece si formano, sia pure in misura minima, durante la rettifica, particolarmente nella fase di decolorazione su terre attive.

Ne consegue che gli oli rettificati presentano valori di assorbimento nell'U.V., particolarmente nella zona intorno ai 270 nm, notevolmente superiori a quelli dei vergini. Infatti i gruppi etilenici isolati, oppure i gruppi carbossilici degli acidi grassi, presentano massimi di assorbimento tra 175 e 185 nm, ovvero al di fuori della zona utilizzabile dello spettro U.V. che inizia, come noto, a lunghezze d'onda superiori. Sappiamo invece che la formazione di idroperossidi in acidi grassi polinsaturi provoca uno slittamento del doppio legame con formazione di un sistema dienico coniugato che assorbe a 232 nm. Inoltre, durante la rettifica degli oli lampanti perossidati, il passaggio su terre attive provoca la formazione di trieni coniugati (aventi una banda di assorbimento, con tre massimi, intorno ai 270 nm) verosimilmente per decomposizione di un idroperossido linoleico. Anche la formazione di composti chetonici, per ossidazione ancora più spinta, provoca un maggiore assorbimento che si manifesta attorno ai 270 nm.

L'esame U.V. viene condotto sull'olio disciolto in opportuno solvente (cicloesano o isoottano) nell'intervallo compreso tra i 220 e i 280 nm. Le lunghezze d'onda più significative sono 232, 262, 268 e 274 nm. I valori di assorbimento vengono espressi come assorbanza specifica, intendendo con questa espressione l'assorbanza ad una certa lunghezza d'onda, di una soluzione all'1 % dell'olio in esame nel solvente prescelto, osservata in una cella dello spessore di 1cm.

Nel caso degli oli è invalso l'uso di esprimere l'assorbanza specifica con la lettera K. Per esempio, l'espressione K_{268} indica l'assorbanza specifica dell'olio in esame alla lunghezza d'onda di 268 nm. In termini numerici si ha :

$$K_{268} = A (1\text{cm}/1\%_{(268\text{ nm})}) = A_{268} / c \times s$$

Dove:

A_{268} è il valore dell'assorbanza a 268 nm della soluzione dell'olio in esame,

c la concentrazione della soluzione espressa in g/100 mL,

s lo spessore (cammino ottico) in cm della cella di quarzo nella quale viene esaminata la soluzione dell'olio in esame.

Per quanto riguarda il solvente, il Metodo Ufficiale, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale nel 1963, indica l'isooctano, mentre nelle numerose sperimentazioni eseguite negli anni precedenti era stato impiegato quale solvente generalmente il cicloesano.

Procedura: *L'olio da esaminare deve essere perfettamente limpido; in caso contrario si filtra su carta. In un matraccio tarato da 50 mL si pesano esattamente 0,5 g circa di olio; se l'operatore ha motivo di ritenere che l'olio in esame presenti valori di assorbanza elevati (olio rettificato, olio di sansa) è opportuno pesare quantitativi minori (0,2÷0,3 g) in modo da leggere valori di assorbanza non superiori a 0,8. Si aggiunge isooctano spettrofotometricamente puro e si porta a volume, agitando per omogeneizzare la soluzione con la quale si riempie una vaschetta prismatica in quarzo per spettrofotometria U.V. dello spessore di 1 cm.*

Si dispone la vaschetta nell'apposito alloggiamento dello spettrofotometro e si ricava lo spettro, rispetto al solvente puro con il quale è stata riempita una vaschetta che funziona da bianco, nell'intervallo compreso tra i 220 e i 280 nm. Si prende nota dei valori di assorbanza A . Con gli oli di oliva vergine, rettificato e di sansa si ottengono gli spettri di assorbimento riportati nella Figura.

Come si può osservare, il comportamento spettrale è notevolmente diverso nei tre tipi di olio, questo permette di individuare anche piccole aggiunte di rettificato, o di sansa, all'olio di oliva vergine. Quest'ultimo infatti presenta un assorbimento che decresce rapidamente verso valori molto bassi (inferiori a 0,200) nella zona compresa tra 260 e 280 nm, dove l'andamento della curva è praticamente parallelo all'asse delle ascisse, sulla quale sono riportate le lunghezze d'onda (in ordinate sono riportati i valori di assorbanza). Invece nel caso di olio rettificato, e più ancora nel caso dell'olio di sansa, i valori di assorbanza in tale zona sono molto più elevati e la curva assume un andamento caratteristico con tre massimi, dovuti alla presenza dei trieni, dei quali il più accentuato è quello centrale a 268 nm. Ai fini del giudizio, specialmente nel caso di miscele, è importante conoscere anche l'altezza del picco principale, tenendo conto del valore dell'assorbanza a 268 nm, corrispondente al massimo, e quelli a 262 ed a 274 nm, corrispondenti ai due minimi. Questa altezza, indicata come ΔK , si ricava dall'espressione:

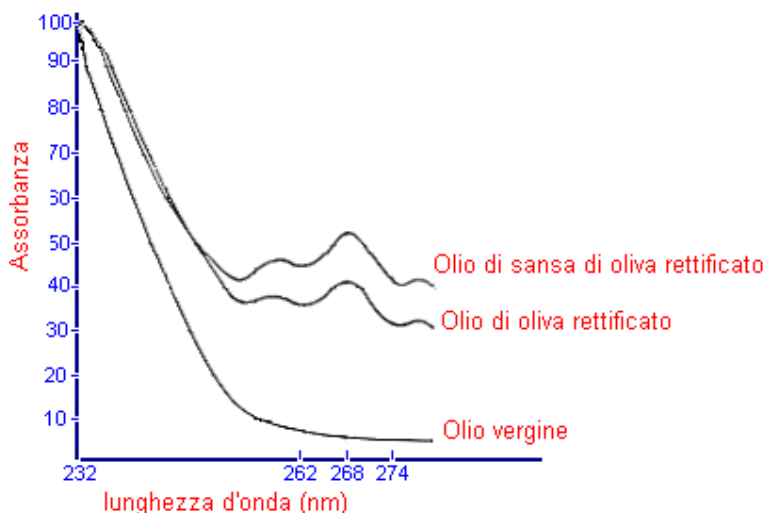
$$\Delta K = K_{268} - (K_{262} + K_{274}) / 2$$

Non sono stati ancora fissati per legge i dati spettrofotometrici caratteristici per i vari tipi di olio, ma, in pratica, vengono accettati i seguenti valori proposti dalla

Commissione Tecnica Governativa: 232 nm (zona dei dieni), a 262, a 268 e 274 nm (zona dei trieni), e si calcolano i valori di K mediante l'espressione:

$$K = A / c \times s$$

dove K, A, c ed s hanno i significati già indicati. È opportuno che i valori di A, letti allo spettrofotometro, siano compresi tra 0,2 e 0,8. In caso contrario si ripete la lettura o sulla stessa soluzione posta in vaschette di spessore diverso da 1 cm, oppure su di una nuova soluzione di concentrazione opportunamente variata.



Il Regolamento (CE) n° 1989/2003 della commissione del 6 novembre 2003 ha stabilito per l'olio d'oliva i seguenti limiti:

Categoria	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK
OLIO EXTRAVERGINE D'OLIVA	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01
OLIO DI OLIVA VERGINE	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01
OLIO DI OLIVA LAMPANTE	-	-	-
OLIO DI OLIVA RAFFINATO	-	≤ 1,10	≤ 0,16
OLIO DI OLIVA COMPOSTO DI OLI DI OLIVA RAFFINATI E DI OLI DI OLIVA VERGINI	-	≤ 0,90	≤ 0,15
OLIO DI SANSI DI OLIVA GREGGIO	-	-	-
OLIO DI SANSI DI OLIVA RAFFINATO	-	≤ 2,00	≤ 0,20
OLIO DI SANSI DI OLIVA	-	≤ 1,70	≤ 0,18

6.6 Numero di saponificazione

Il **numero di saponificazione** è dato dal numero di milligrammi di KOH richiesti per neutralizzare tutti gli acidi, liberi o combinati (come trigliceridi), presenti in 1 grammo di sostanza grassa.

Per i comuni grassi alimentari l'indice è compreso tra 190 e 200, però nel burro (data la presenza di un 10% circa di gliceridi di acidi grassi a corta catena) supera il valore di 220.

E' ovvio che se nel grasso fossero stati aggiunti idrocarburi, il valore scenderebbe moltissimo.

Reattivi: *alcol etilico di 95°,
fenolftaleina (soluzione alcolica all'1%),
acido cloridrico 0,5 N (soluzione titolata),
potassa alcolica 0,5 N (soluzione titolata).*

Vetreteria: *burette 25 o 50 mL classe A;
beuta da 250 mL con cono a smeriglio;
scaldino;
refrigerante verticale a ricircolo di acqua;
cilindri graduati.*

Procedimento: *Si pesano esattamente alla bilancia di precisione, in un tubetto (o, se si tratta di grasso solido, in un cartoccio di carta oleata), circa 1,5 g di grasso (olio, in questo caso) e si introducono (**compreso il tubetto o il cartoccio**) in una beuta da 250 mL, senza sporcarne il collo. Si versano poi nella beuta 25 mL di alcol 95 °C e, misurandoli con la buretta, 25 mL di soluzione N/2 di KOH alcolica.*

Si scalda poi a ricadere a bagno maria per 15 min. (impiegando come refrigerante una canna di vetro adattata mediante tappo di gomma alla beuta).

Dopo raffreddamento, si aggiungono alcune gocce di fenolftaleina e si titola fino a decolorazione con acido cloridrico N/2.

Il numero di milligrammi di KOH richiesti per neutralizzare tutti gli acidi, liberi o combinati (come trigliceridi), presenti in 1 grammo di sostanza grassa corrisponderà al numero di saponificazione.

6.7 Indice di Rifrazione

La misura viene eseguita alla temperatura di 25 °C.

I limiti per gli olii di oliva vergini, sono generalmente costituiti dai valori 1,4662 e 1,4681 corrispondenti rispettivamente a valori del grado rifrattometrico di 60,5 e 63,4.

L'olio di oliva rettificato ha valori caratteristici ufficiali compresi tra 1,4665 e 1,4682 (in gradi rifrattometrici 61-63,5).

Per l'olio di sansa di oliva rettificato gli estremi ufficiali sono 1,4672-1,4685 (in gradi rifrattometrici 62-64,5).

7. ANALISI DELL'ACQUA

7.1 Determinazione del numero di ossidabilità

Quando si riscalda l'acqua con permanganato potassico in presenza di acido solforico avviene una riduzione del permanganato in misura proporzionale alla quantità di sostanze organiche presenti in soluzione nell'acqua.

Le sostanze organiche rappresentano un'impurezza per cui tanto più pura è l'acqua, tanto minore sarà la quantità di permanganato ridotta.

Quest'ultima viene espressa con il **numero di ossidabilità o di Kubel o delle sostanze organiche**. Esso indica i **milligrammi di ossigeno** ceduto dalla soluzione acida di permanganato potassico che sono necessari per ossidare le **sostanze organiche** contenute in **un L di acqua**.

Per la determinazione si impiega una soluzione di KMnO_4 N/100.

Reattivi: *acido solforico diluito 1:3,
acido ossalico 0,01 N (soluzione titolata),
permanganato potassico 0,01 N (soluzione titolata).*

Vetreteria: *burette 25 o 50 mL classe A;
beute da titolazione da 250 mL;
scaldino;
bacchetta di vetro;
cilindri graduati.*

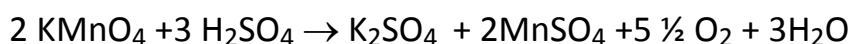
Procedimento: *a 100 mL di acqua in esame si aggiungono 5 mL di acido solforico diluito a 10 mL di permanganato N/100 esattamente misurati con la buretta.*

Si fa bollire per 5 min. (se la soluzione dovesse decolorarsi occorrerà impiegare un volume maggiore di permanganato, per es. 20 mL).

Si aggiunge quindi un volume di acido ossalico 0,01 N, esattamente misurato, uguale a quello di permanganato utilizzato e si rititola a caldo il liquido decolorato con permanganato 0,01 N fino a colorazione rosea persistente.

Il Decreto del Presidente della Repubblica 24 maggio 1988, n. 236, attuazione della direttiva CEE n. 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, per il consumo di ossigeno, fissa un valore guida di 0,5 mg/L ed un valore massimo ammissibile di 5 mg/L.

Reazioni di riferimento:



7.2 Determinazione della durezza dell'acqua

La **durezza dell'acqua** è in relazione al suo contenuto in sali di calcio e di magnesio disciolti. Le acque si dicono "dure" se hanno un elevato contenuto di sali, "molliti o dolci" se contengono invece pochi sali disciolti.

Si distingue una **durezza totale** dovuta a tutti i sali di Ca e Mg disciolti, una **durezza permanente**, dovuta ai sali (solfati, cloruri, nitrati) che rimangono in soluzione anche dopo l'ebollizione dell'acqua e una **durezza temporanea** (data dalla differenza tra quella totale e quella permanente) dovuta ai sali (bicarbonato che precipitano dall'acqua in seguito a ebollizione a causa della loro trasformazione in carbonati insolubili - $\text{Me}(\text{HCO}_3)_2 \rightarrow \text{MeCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$).

Si può anche distinguere tra **durezza calcica** che corrisponde al tenore totale di sali di calcio e **durezza magnesica** che corrisponde al tenore totale di sali di magnesio.

Il primo metodo impiegato per determinare la durezza dell'acqua (metodo di Boutron-Boudet o idrotrimetria) si basava sul fatto che, se si aggiungeva ad una acqua distillata o poco dura alcune gocce di soluzione idroalcolica di sapone di Marsiglia, agitando si otteneva immediatamente la formazione di schiuma, mentre se si utilizzava dell'acqua dura non si otteneva schiuma in quanto si formavano saponi di Ca e Mg insolubili che davano intorbidamento e precipitavano. Continuando ad aggiungere la soluzione saponosa e dopo aver precipitato tutti i sali di Ca e Mg si otteneva una schiuma stabile.

Il **metodo** oggi impiegato per la determinazione della durezza è quello **complessometrico**. La durezza si può esprimere in gradi francesi, tedeschi o inglesi.

Un grado francese corrisponde a 1 g di CaCO_3 in 100 l (10 ppm).

Un grado tedesco (Clark) corrisponde alla durezza di un'acqua contenente sali di Ca e Mg in quantità corrispondente a 1 g di CaO in 100 l di acqua (10 ppm).

Un grado inglese corrisponde ad una parte di CaCO_3 in 70.000 parti di acqua, cioè ad un centigrammo in 700 mL.

Ecco la Tabella delle corrispondenze:

1 grado francese = 0,56 gradi tedeschi = 0,70 gradi inglesi.

1 grado tedesco = 1,78 gradi francesi = 1,25 gradi inglesi.

1 grado inglese = 1,43 gradi francesi = 0,80 gradi tedeschi.

La complessometria comprende una serie di metodi per la determinazione quantitativa di diversi ioni metallici che si basano sulla formazione di complessi o chelati tra gli ioni in questione e particolari sostanze indicate come **complessanti** (o sequestranti o verseni). Tra questi il più utilizzato è il complesso III (o versenato) che è il sale bisodico dell'acido etilendiaminotetracetico (EDTA o complesso III).

Gli ioni Ca^{++} e Mg^{++} reagiscono con l'EDTA o il suo sale bisodico (perché è più solubile) formando dei chelati e poiché la reazione è quantitativa e i complessi sono stabili, è possibile dosare Ca e Mg presenti nell'acqua impiegando una soluzione a titolo noto di EDTA e un indicatore in grado di mettere in evidenza il punto finale della reazione. Generalmente si utilizza il nero eriocromo T, un colorante azoico che tra pH 7 e pH 11 ha colore azzurro cupo (al di sotto di pH 6,5 è invece rosso) ed è capace di formare con gli ioni magnesio un chelato di colore rosso (con Ca^{++} invece forma un composto poco stabile). La colorazione è stabile tra pH 7 e pH 11 per cui si opera con soluzione tamponata con ammoniaca e cloruro ammonico, evitando nel contempo la precipitazione del Mg come idrossido.

Poiché il complesso Mg-EDTA è meno stabile del complesso Ca-EDTA, titolando con EDTA una soluzione in cui sono presenti Ca^{++} e Mg^{++} come è il caso di un'acqua dura, verrà prima complessato dall'EDTA tutto il calcio (che non reagisce con eriocromo T) poi il magnesio libero ed infine il magnesio legato all'indicatore in quanto questo complesso è meno stabile di quello tra magnesio e EDTA. L'indicatore, liberato dal Mg, virerà quindi dal rosso al blu.

Impiegando come indicatore il nero eriocromo T occorre che sia sempre presente una certa quantità di ioni Mg^{++} , o nel caso contrario aggiungere complessonato di Mg^{++} . Le compresse indicatore-tampone che vengono disciolte nel campione di acqua in esame contengono oltre all'indicatore nero eriocromo T, cloruro di ammonio, complessonato di magnesio o di zinco, un indicatore giallo azoico che funge da schermante del cloruro di sodio impiegato quale eccipiente delle compresse.

In commercio sono reperibili soluzioni di EDTA a titolo noto espresse in grado di durezza. Queste soluzioni denominate Titriplex (Merck, Germania) sono disponibili in differenti diluizioni:

Titriplex A - 1 mL di soluzione corrisponde a 5,6 gradi tedeschi
(per la determinazione si impiegano 10 mL del campione).

**Titriplex B - 1 mL di soluzione corrisponde a 1 grado tedesco
(per la determinazione si impiegano 100 mL del campione).**

Titriplex C - 2,3 mL di soluzione corrisponde a 12,3 gradi tedeschi
(per la determinazione si impiegano 40 mL del campione).

La presenza di ioni manganese e zinco nel campione in analisi comporta che anch'essi vengano titolati come durezza in quanto formano chelati con l'EDTA. La presenza di ioni rameici in concentrazione maggiore di 0,1 mg/l non permette di ottenere un viraggio netto, in questo caso si può complessare il rame con KCN. Anche la presenza di ioni Fe^{+++} in concentrazione superiore a 0,25 mg/l può interferire con la titolazione, in tal caso il ferro può essere precipitato come solfuro aggiungendo al campione del solfuro sodico.

Reattivi: *ammoniaca concentrata ($d=0,91$),
comprese indicatore-tampone (Merck),
soluzione di complessone (Titrplex A o B o C - Merck).*

Vetreteria: *burette da 10 o 5 mL classe A;
beute da titolazione da 250 mL;
scaldino;
bacchetta di vetro;
pipette graduate e propipette.*

Procedimento: *si scioglie la compressa indicatore-tampone in 100 mL di acqua in esame posti in una beuta da 250 mL e alla soluzione ottenuta si addiziona 1 mL di ammoniaca (prelevata con pipetta graduata): il colore passa dal giallo al rosso.*

Impiegando una buretta da 5 mL o 10 mL, si titola con la soluzione di Titrplex B agitando bene dopo ogni aggiunta, fino al viraggio dal rosso al verde (il colore blu dell'indicatore libero è schermato dal colorante azoico giallo).

Per esprimere la durezza in gradi tedeschi basterà riferirsi ai mL di titolante impiegati. Se l'acqua in esame è molto dura se ne dovrà impiegare un volume minore, portandolo poi a 100 mL con acqua demineralizzata, e tenendone ovviamente conto nei calcoli.

Per determinare la durezza permanente si procede nel seguente modo: 100 mL di acqua in esame vengono fatti bollire per mezzora sostituendo con acqua demineralizzata quella che evapora (per evitare che si separi il solfato di calcio biidrato o gesso, poco solubile). Dopo raffreddamento si filtra e si porta a volume di 100 mL in matraccio tarato con acqua demineralizzata. Su tale volume si determina la durezza permanente.

Per differenza tra la durezza totale e quella permanente si ottiene la durezza temporanea.

La durezza totale, la durezza temporanea e la durezza permanente dovranno essere espresse in gradi francesi.

7.3 Ricerca e determinazione dei cloruri

I cloruri sono sempre presenti nelle acque, ma la loro quantità varia entro limiti piuttosto ampi in base al tipo di terreno attraversato. Occorre sempre assicurarsi, mediante indagini chimiche e batteriologiche, che i cloruri non provengano da inquinamenti dovuti ad infiltrazioni di reflui biologici.

La ricerca qualitativa dei cloruri si esegue acidificando l'acqua con acido nitrico e aggiungendo alcune gocce di soluzione di nitrato di argento: si ha intorbidamento o precipitazione di cloruro d'argento bianco, solubile in ammoniaca.

Il metodo di dosaggio utilizzato è il **metodo di Mohr**: che consiste nel titolare il campione con nitrato di argento in presenza di cromato potassico come indicatore ed in ambiente neutro. Il punto finale della titolazione è indicato nella comparsa della colorazione rossa, caratteristica del cromato d'argento.

Reattivi: soluzione di AgNO_3 0,01 N,
soluzione di cromato potassico al 5%.

Vetreteria: burette da 5 o 10 mL classe A;
beute da titolazione da 250 mL.

Procedimento: versare in una beuta 250 mL di acqua in esame, aggiungendo poche gocce di indicatore (cromato potassico) e titolare da una buretta da 5 mL con la soluzione di nitrato di argento fino a comparsa di una debole colorazione rossa.

Il contenuto di cloruri si esprime in mg/L.

7.4 Ricerca del ferro

Il ferro si può riscontrare nell'acqua sotto forme differenti. A pH compreso tra 4,5 e 9 è presente generalmente allo stato ferroso. Se il mezzo è riduttore, come nel caso di molte acque sotterranee, il ferro ferroso può raggiungere anche tenori elevati. In assenza di complessi il ferro ferroso non è solubile in modo significativo che a pH inferiori a 5 per cui le acque superficiali ne contengono poco.

Per azione dell'aria o per aggiunta di cloro, il ferro è ossidato allo stato ferrico e per idrolisi può dare idrossido ferrico insolubile. Generalmente si ritrova nei campioni da analizzare in questa forma.

Reattivi: acido cloridrico al 10% (diluire a 500 mL con acqua distillata 125 mL di HCl concentrato),
acido nitrico concentrato,
solfocianato potassico al 25%.

Vetreteria: cilindri graduati con cono a smeriglio classe A;
pipette graduate e pro-pipetta.

Procedimento: 100 mL di acqua in esame si trattano, in un cilindro a tappo smerigliato, con 1 mL di acido nitrico concentrato e si agita bene.

50 mL della soluzione risultante si trattano, in un altro cilindro smerigliato, con 5 mL di HCl al 10% e 5 mL di solfocianato potassico al 25% agitando accuratamente: in presenza di Fe^{+++} compare una colorazione rosso sangue.

La reazione si presta bene al dosamento quantitativo del ferro, disponendo di una soluzione standard di confronto.

7.5 Ricerca e determinazione dell'ammoniaca, dei nitriti e dei nitrati

Per determinare la presenza di nitriti, nitrati e ammoniaca vengono utilizzati i rispettivi test prodotti dalla Merck (Germania):

- nitriti: Merckoquant 10 007
- nitrati: Merckoquant 1.10020
- ammoniaca: Aquaquant 14400.

Vedere le istruzioni riportate sui foglietti illustrativi.