

# CEREALI

Maria Grazia D'Egidio

## Introduzione

I cereali sono senza dubbio le piante agrarie maggiormente utilizzate per i fabbisogni alimentari dell'uomo e degli animali; costituiscono da millenni la più diffusa ed economica fonte di alimenti energetici e, grazie alla presenza di una discreta quantità di proteine, riescono ancora oggi a soddisfare le abitudini e le tradizioni alimentari dei vari paesi, contribuendo per circa 2/3 alle esigenze caloriche della popolazione mondiale. L'importanza dei cereali sta sia nell'uso diretto che l'uomo ne fa nella sua alimentazione quotidiana, sia nel largo impiego degli stessi nell'alimentazione animale da cui, in seguito a ulteriori trasformazioni, derivano altri prodotti come carne, uova, latte e derivati ecc. che rientrano sempre nell'alimentazione dell'uomo.

Le caratteristiche di adattabilità ambientale dei cereali ne hanno consentito la coltivazione in tutti i paesi del mondo e la loro conservabilità ne ha facilitato il trasporto da un paese all'altro e la conservazione a lunga scadenza.

Le caratteristiche morfologiche delle cariossidi e quelle chimico-fisiche dei costituenti base delle stesse determinano la qualità e il valore merceologico della granella e l'idoneità ad essere trasformata in prodotti semilavorati (es. semole, farine, ecc.) e finiti (es. pasta, pane e prodotti da forno ecc.). La definizione di tali caratteristiche richiede l'esecuzione di analisi chimiche, fisiche, reologiche, alcune delle quali sono alla base dei contratti di commercializzazione nazionali ed internazionali.

## 1. LEGISLAZIONE

Una disposizione legislativa alla base della commercializzazione dei cereali e derivati destinati alla trasformazione è la legge n° 580 del 4.07.1967 con le successive modifiche/revisioni recepite nel corso degli anni, ultima delle quali quella del febbraio 2001. A questa legge nazionale si aggiungono i regolamenti comunitari sia quelli che stabiliscono le procedure e le condizioni di presa in consegna dei cereali da parte degli organismi d'intervento (quello iniziale è il 1492/71), sia le norme vigenti o cogenti in misura di sicurezza igienico-sanitaria, di qualità, di controlli.

La legislazione sia comunitaria che nazionale fa riferimento ad una serie di parametri (merceologici, chimici, tecnologici ecc.) con i relativi limiti, che implicano anche la definizione dei metodi di analisi.

## 2. CAMPIONAMENTO

### ■ Riferimento bibliografico

Campionamento di cereali e derivati: UNI EN ISO 24333; ICC 101/1; ICC 120; ICC 130.

Preliminarmente alle determinazioni analitiche in uso, un'attenzione particolare va posta alla fase di campionamento, fondamentale per fornire risultati validi ed attendibili.

Un campionamento corretto, ai diversi livelli della filiera produttiva, richiede grande attenzione. Per meglio comprendere le procedure e i requisiti di un corretto campionamento, è opportuno ricordare alcuni termini e definizioni:

- **lotto:** quantità definita di materiale (cereali e prodotti derivati) da cui può essere prelevato un campione e controllato per determinare una o più caratteristiche;
- **campionamento:** atto di prendere o costituire un campione;
- **prelievo:** piccola quantità di cariossidi/prodotto (cereali) preso in una volta in un singolo punto di campionamento in lotto;
- **campione aggregato (composito):** aggregazione di due o più prelievi effettuati tramite campionamento sperimentale in tutto il lotto, poi mescolati e resi omogenei;
- **campione di laboratorio:** campione preparato omogeneizzando e suddividendo un campione composito, da inviare al laboratorio destinato al controllo prove;
- **omogeneizzazione:** completo mescolamento con mezzi meccanici o manuali così che contaminanti e proprietà fisiche siano uniformemente distribuite in tutto il campione composito o nel campione di laboratorio;
- **unità confezionata:** quantità di cariossidi o prodotti macinati imballati in sacchi, sacchetti, confezioni al dettaglio;
- **errore di campionamento:** quota della stima totale dell'errore dovuto alle caratteristiche di eterogeneità, natura del campione e conosciute ed accettabili carenze nel piano di campionamento.

È noto che è difficile delineare regole precise che possano essere seguite in ogni caso e circostanza, considerando le diverse situazioni a cui il campionamento viene applicato.

Le norme esistenti sul campionamento specificano le condizioni generali riguardanti il campionamento stesso per cariossidi e prodotti macinati, in condizioni statiche o dinamiche. Qui viene riportata una sintesi della norma generale UNI EN ISO 24333 che ha recepito gli ultimi aggiornamenti in materia.

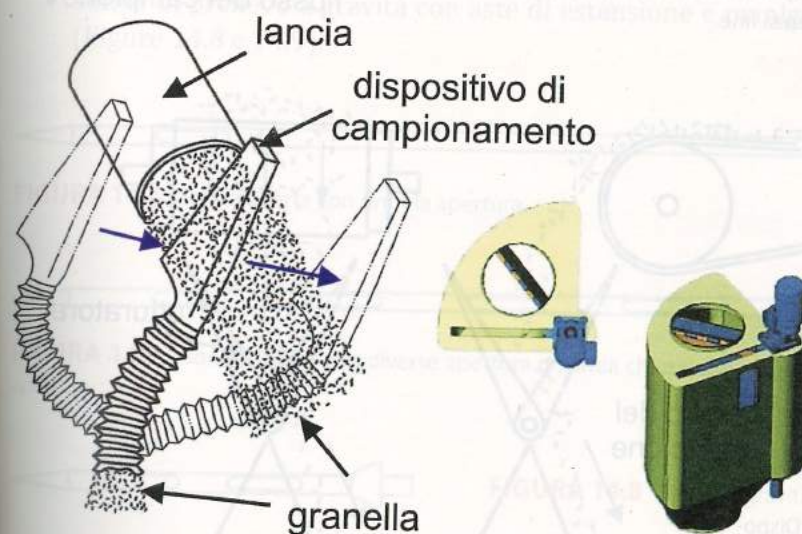
### ■ Generalità

I campioni devono essere prelevati rapidamente, devono essere rappresentativi dei lotti dai quali sono stati presi, le operazioni devono essere eseguite in

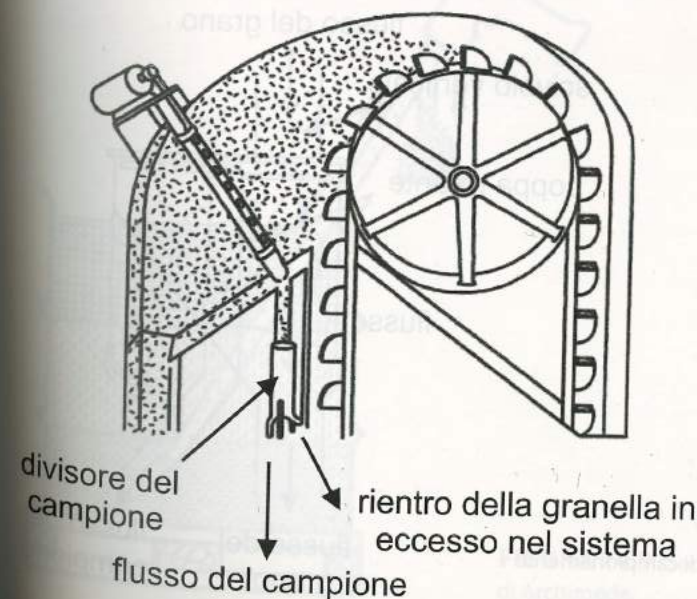
modo tale da proteggere i campioni, gli strumenti e i contenitori nei quali vengono posti i campioni da contaminazioni casuali. Va definito il numero di prelievi che costituiscono il campione aggregato; tale campione deve essere reso omogeneo. Dal momento che la composizione del lotto è raramente uniforme, deve essere fatto un numero sufficiente di prelievi così da avere un campione aggregato dal quale, per successive divisioni, si possono avere i campioni di laboratorio.

Esistono differenti strumenti/dispositivi di base necessari per il campionamento, che devono essere scelti in funzione del prodotto da campionare, della quantità e dei contenitori usati. Vengono di seguito riportati alcuni esempi per le diverse tipologie:

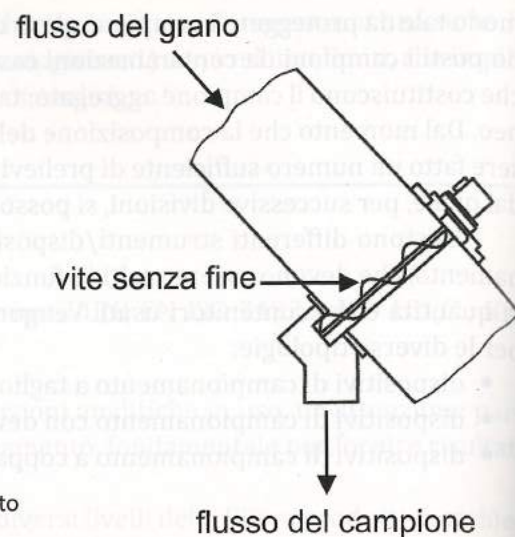
- dispositivi di campionamento a taglio trasversale (Figure 14.1-14.3);
- dispositivi di campionamento con deviatori di flusso (Figura 14.4);
- dispositivi di campionamento a coppa rotante (Figura 14.5).



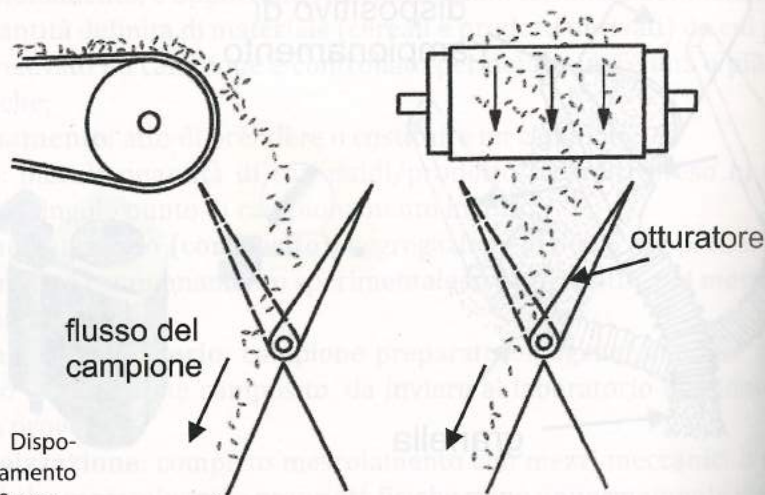
**FIGURA 14.1** Dispositivo di campionamento a taglio trasversale con lancia aperta, a intermittenza e a campionamento ripetuto.



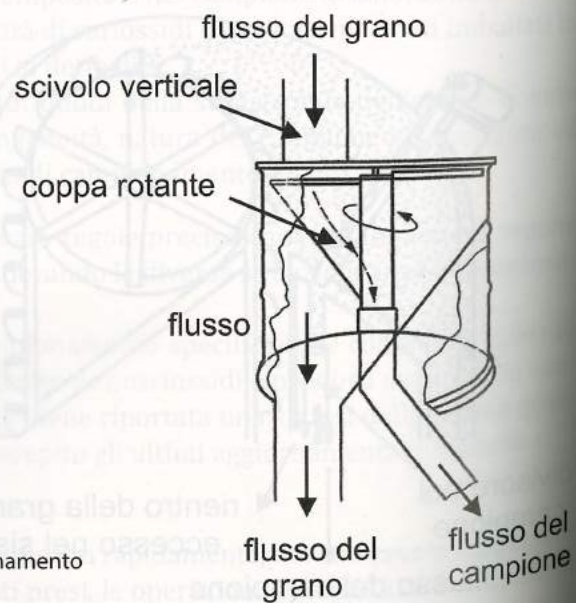
**FIGURA 14.2** Dispositivo di campionamento tubolare a taglio trasversale con aperture regolabili.



**FIGURA 14.3** Dispositivo di campionamento tubolare con vite senza fine.



**FIGURA 14.4** Dispositivo di campionamento con deviatore di flusso.



**FIGURA 14.5** Dispositivo di campionamento a coppa rotante.

I prelievi possono essere fatti mentre il prodotto è in movimento ed in tal caso vengono effettuati ad intervalli di tempo in relazione alla velocità di flusso.

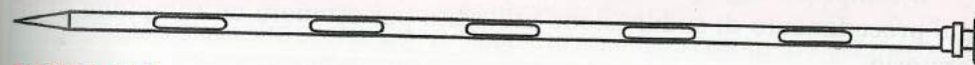
I metodi di prelievo di campioni possono riguardare prodotti trasportati in massa o alla rinfusa come avviene nelle stive delle navi, sui treni e sugli autocarri; in tal caso i prelievi di campionamento avvengono nella stiva durante le operazioni di carico o scarico finale. Nel trasporto su ferrovia o strada (a meno che non venga diversamente specificato) ogni vagone caricato o autocarro deve essere sottoposto a campionamento e i prelievi devono essere fatti per tutta la profondità del prodotto per mezzo di idonei campionatori.

Per il campionamento dalla massa si usano pale, campionatori cilindrici, sonde appositamente sagomate; di queste ultime sono riportati alcuni esempi:

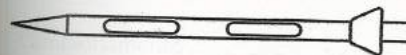
- strumenti utilizzati per campionamento statico da una massa di prodotto contenuto in grandi sacchi e contenitori rigidi (Figure 14.6 e 14.7);
- sonde di prelievo a gravità con aste di estensione e maniglie a forma di T (Figure 14.8 e 14.9).



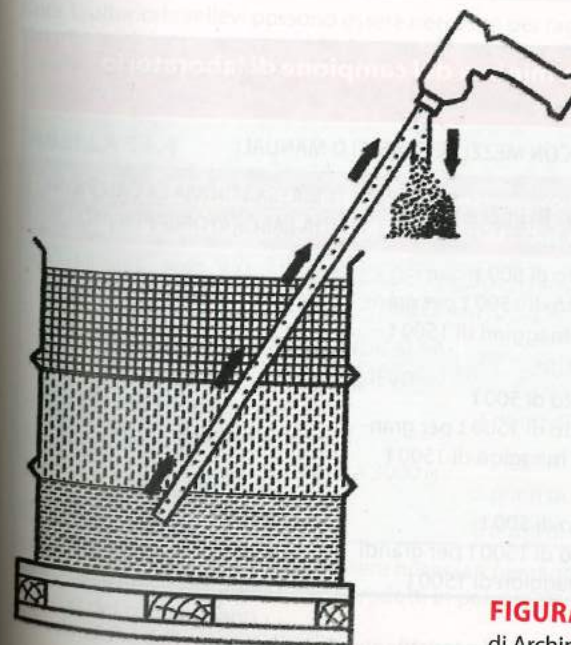
**FIGURA 14.6** Sonda aperta con singola apertura.



**FIGURA 14.7** Sonda aperta con diverse aperture o sonda chiusa con compartimenti e diverse aperture.

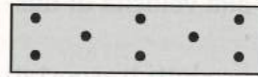


**FIGURA 14.8** Sonda a gravità con testa conica.



**FIGURA 14.9** Sonda con vite elettromeccanica di Archimede.

## a) campionamento per 8 punti



per autocarri "in pezzo unico"  
(es. autocarro con cassone, semi-rimorchio)



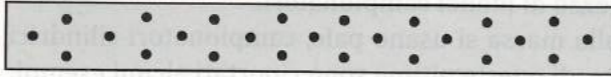
carrello



rimorchio

per autocarri distribuiti in carrelli e rimorchio

## b) campionamento per 25 punti



**FIGURA 14.10** Esempi della distribuzione dei punti di campionamento: a) per 8 punti, b) per 25 punti.

Nelle Tabelle 14.1-14.4 è riportato il numero dei campioni da prelevare per cereali in granella o prodotti macinati.

■ **Campione di laboratorio**

Il campione aggregato (composito) deve essere omogeneizzato prima di ogni procedimento di suddivisione utilizzato per ottenere un campione di laboratorio.

La riduzione del campione aggregato per ottenere il richiesto numero di campioni di laboratorio con le quantità di massa indicate nelle apposite tabelle deve essere effettuata utilizzando metodi ed equipaggiamento adeguati; di seguito sono riportati alcuni esempi.

TABELLA 14.1

Procedura di campionamento per ottenere la massa minima del campione di laboratorio per flusso di granella			
CAMPIONAMENTO DEL FLUSSO DI GRANELLA CON MEZZI MECCANICI O MANUALI			
METODO	RANGE DI MASSA DI PRELIEVO	NUMERO MINIMO DI PRELIEVI <sup>a</sup>	MASSA MINIMA DI CAMPIONE DA LABORATORIO PER ANALISI <sup>b</sup>
Campionamento meccanico	da 300 g a 1900 g	- 20 per lotto o sub-lotto di 500 t - 25 per lotto o sub-lotto di 1500 t per grandi lotti di dimensioni maggiori di 1500 t	da 1 kg a 3 kg in base alle richieste analitiche
Campionamento manuale	da 300 g a 1900 g	Per contaminanti: - 20 per lotto o sub-lotto di 500 t - 25 per lotto o sub-lotto di 1500 t per grandi lotti di dimensioni maggiori di 1500 t  Per altre analisi: - 3 per lotto o sub-lotto di 500 t - 4 per lotto o sub-lotto di 1500 t per grandi lotti di dimensioni maggiori di 1500 t	

<sup>a</sup> frequenza in base al flusso della granella

<sup>b</sup> ad eccezione delle analisi di contaminanti (micotossine, pesticidi, metalli pesanti)

TABELLA 14.2

Procedura di campionamento per ottenere la massa minima del campione di laboratorio per granella statica

CAMPIONAMENTO DI MASSA STATICA DI GRANELLA (RACCOMANDATI SISTEMI DI CAMPIONAMENTO MECCANICO) IN RIMORCHI O CAMION, VAGONI			
DIMENSIONE DEL SUB-LOTTO O DEL LOTTO <i>m</i>	RANGE DI MASSA DI PRELIEVO <sup>a</sup>	NUMERO MINIMO DI PRELIEVI <sup>b</sup>	MASSA MINIMA DI CAMPIONE DA LABORATORIO PER ANALISI <sup>c</sup>
$m \leq 15$ t	da 400 g a 3000 g	3 punti di campionamento	da 1 kg a 3 kg in base alle richieste analitiche
$15 < m \leq 30$ t		8 punti di campionamento	
$30 < m \leq 45$ t		11 punti di campionamento	
$45 < m \leq 100$ t		15 punti di campionamento	
$100 < m \leq 300$ t		18 punti di campionamento	
$300 < m \leq 500$ t		20 punti di campionamento	
$500 < m \leq 1500$ t		25 punti di campionamento	
lotti o sub-lotti di 1500 t		25 punti di campionamento	

<sup>a</sup> se prelevate meccanicamente la massa del campione può essere appropriata alla strumentazione

<sup>b</sup> per sacchetti profondi di granella, un campione preso ogni 2 m su un campionamento in altezza corrisponde a un prelievo. Ripetere la procedura tante volte quanto necessario

<sup>c</sup> ad eccezione delle analisi di contaminanti (micotossine, pesticidi, metalli pesanti)

TABELLA 14.3

Procedura di campionamento per ottenere la massa minima del campione di laboratorio per flusso dei prodotti macinati dei cereali

CAMPIONAMENTO DEL FLUSSO DEI PRODOTTI MACINATI DEI CEREALI CON MEZZI MECCANICI O MANUALI			
METODO	MASSA INDICATIVA DI PRELIEVO	NUMERO MINIMO DI PRELIEVI	MASSA MINIMA DI CAMPIONE DA LABORATORIO PER ANALISI <sup>a</sup>
Campionamento meccanico	da 300 g a 1900 g	15 per lotto o sub-lotto di 100 t (frequenza in base al flusso)	da 1 kg a 3 kg in base alle richieste analitiche
Campionamento manuale	da 300 g a 1900 g	15 per lotto o sub-lotto di 100 t: es. per un flusso $\leq 20$ t/h, minimo 3 per ora es. per un flusso $> 20$ t/h, minimo 3 per 20 t	

Nota 1: ulteriori prelievi possono essere necessari per raggiungere la massa minima per il campione di laboratorio

Nota 2: poiché si presuppone che i prodotti in polvere siano più omogenei dei grani, un campione di 1 kg è sufficiente per le analisi dei contaminanti

<sup>a</sup> ad eccezione delle analisi di contaminanti (micotossine, pesticidi, metalli pesanti)

TABELLA 14.4

Procedura di campionamento per ottenere la massa minima del campione di laboratorio per massa statica dei prodotti macinati dei cereali

CAMPIONAMENTO DI MASSA STATICA DEI PRODOTTI MACINATI DEI CEREALI (RACCOMANDATI SISTEMI DI CAMPIONAMENTO MECCANICO) IN RIMORCHI O CAMION, VAGONI			
DIMENSIONE DEL SUB-LOTTO O DEL LOTTO <i>m</i>	MASSA INDICATIVA DI PRELIEVO	NUMERO MINIMO DI PRELIEVI	MASSA MINIMA DI CAMPIONE DA LABORATORIO PER ANALISI <sup>a</sup>
$m \leq 15$ t	da 400 g a 3000 g	3 punti di campionamento	da 1 kg a 3 kg in base alle richieste analitiche
$15 < m \leq 30$ t		3 punti di campionamento per comparto	
$30 < m \leq 45$ t		5 punti di campionamento per comparto	
$m > 45$ t		8 punti di campionamento per comparto	

Nota 1: ulteriori prelievi possono essere necessari per raggiungere la massa minima per il campione di laboratorio

Nota 2: poiché si presuppone che i prodotti in polvere siano più omogenei dei grani, un campione di 1 kg è sufficiente per le analisi dei contaminanti

<sup>a</sup> ad eccezione delle analisi di contaminanti (micotossine, pesticidi, metalli pesanti)

### Strumenti usati per la suddivisione dei campioni

Piccoli separatori da laboratorio per campioni macinati. Il divisore meccanico rotante permette di ottenere simultaneamente campioni multipli.

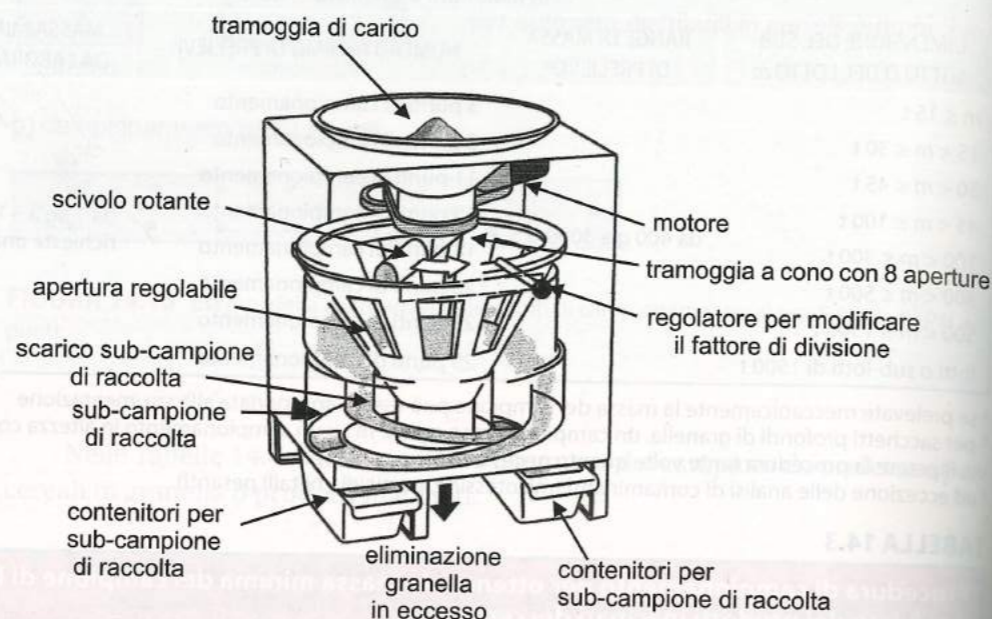


FIGURA 14.11 Campionatore divisore meccanico rotante.

FIGURA 14.12 Campionatore divisore a scannature multiple con due contenitori di raccolta.

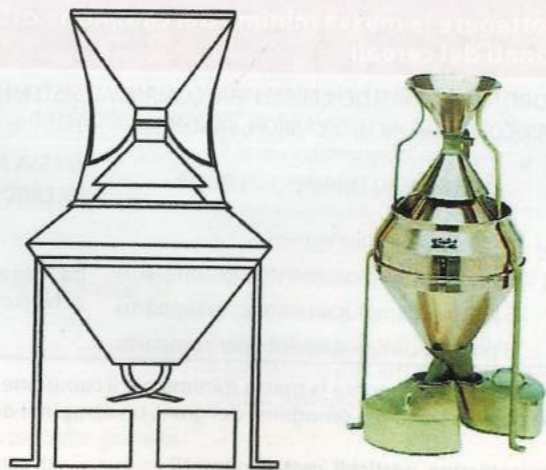
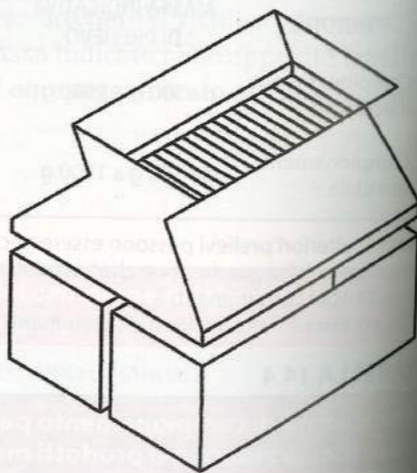


FIGURA 14.13 Campionatore divisore conico (tipo Boemer).

## 3. METODI ANALITICI

La presente rassegna di metodi non vuole essere esaustiva di tutti i metodi analitici in uso nel settore dei cereali, ma solo una presentazione delle principali metodiche analitiche relative ai parametri più comunemente utilizzati. L'evoluzione tecnologica che ha caratterizzato negli ultimi anni tutto il mondo della ricerca, si riscontra anche nel settore delle metodiche e degli strumenti in uso per la caratterizzazione merceologica e tecnologica dei cereali e derivati. In questo settore esistono situazioni alquanto differenti: da un lato, sono stati sviluppati diversi nuovi strumenti, con alto livello di automazione, in grado di sostituire precedenti procedure lunghe e/o laboriose, dall'altro ci sono metodi rimasti sostanzialmente invariati, diffusi da decenni e sempre validi. Sia la messa a punto di nuovi metodi/strumenti, sia una più profonda conoscenza del ruolo svolto dai diversi componenti, ha portato all'identificazione di parametri e metodi sempre più idonei per la valutazione dei cereali nelle diverse fasi della filiera produttiva.

### 3.1. Metodi fisici e chimici

Metodi in cui la procedura è basata su principi fisici, chimici o chimico-fisici.

#### 3.1.1. Determinazione della Massa per ettolitro o Peso ettolitrico

##### Riferimento bibliografico

UNI EN ISO 7971, parti 1, 2, 3.

##### Campo di applicazione

Granella intera di cereali.

##### Scopo

Valutare la densità della massa di un cereale riferita ad un determinato volume, detta "massa per ettolitro" o "peso ettolitrico" del cereale.

##### Definizione

**Massa per ettolitro o peso ettolitrico** è il rapporto tra la massa di un cereale e il volume che esso occupa dopo che è stato liberamente versato dentro un contenitore in condizioni ben definite.

##### Principio del metodo

Il campione di granella (dei diversi cereali) viene versato in un cilindro di riempimento e quindi pesato.

Il metodo di riferimento (UNI EN ISO 7971-1) utilizza un cilindro con capacità di 20 kg, ma nella pratica, per esigenze operative, il peso ettolitrico viene determinato utilizzando cilindri di capacità inferiori (es. 1 kg o 250 g). Questi ultimi devono essere comunque validati con l'apparecchiatura di riferimento (20 L) e debbono produrre risultati confrontabili (UNI EN ISO 7971-2; 7971-3).

##### Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 2 kg di campione.

Si riempie di cereale il cilindro di raccolta campione e si travasa il cereale dentro il cilindro di riempimento preventivamente chiuso tramite l'apposito dispositivo di serraggio; il riempimento deve essere fatto fino all'orlo del cilindro.



FIGURA 14.14 Strumentazione per la determinazione del peso ettolitrico.

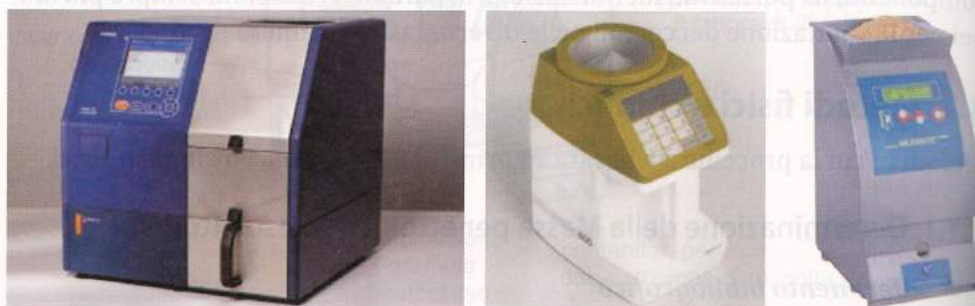


FIGURA 14.15 Esempi di strumenti automatici per la determinazione del peso ettolitrico.

Si aziona il dispositivo di apertura situato nella parte inferiore del cilindro di riempimento, facendo scendere il cereale in maniera uniforme fino al totale spostamento della massa verso il basso. A questo punto viene introdotta la lama di livellamento nell'apposita fessura determinando in tal modo la rasatura esatta del cereale nel cestello stesso.

In questa ultima fase si può versare il contenuto del cestello sulla bilancia stadera o su un piattello di una bilancia tecnica di capacità opportuna.

Dalla massa in grammi, ottenuta tramite apposite tabelle, viene ricavato il valore della massa per ettolitro del cereale in esame espresso in kg/hL. La determinazione si ritiene corretta quando due misure successive danno valori che non differiscono tra loro di più di 0,25 kg/hL.

Il metodo può essere sostituito in tutto o in parte con metodi strumentali automatici o semiautomatici, a condizione che i risultati siano confrontabili.

Sono disponibili commercialmente diversi strumenti completamente automatici (Figura 14.15) per la determinazione del peso ettolitrico.

### 3.1.2. Determinazione della massa di 1000 semi

- **Riferimento bibliografico**  
UNI EN ISO 520.

- **Campo di applicazione**

Il metodo si applica alle cariossidi di tutti i cereali.

- **Scopo**

Valutare la massa in grammi di 1000 cariossidi.

- **Definizione**

**Massa di 1000 semi tal quale** è la massa di mille semi, includendo la determinazione del contenuto di umidità al momento della determinazione.

**Massa di 1000 semi su sostanza secca** è la massa di 1000 semi corretta per il contenuto in umidità del campione al momento della determinazione.

- **Principio del metodo**

Il metodo si basa sulla pesata di un'aliquota di campione prelevato inizialmente a caso, sulla separazione dei chicchi interi e sul conteggio degli stessi. La massa dei chicchi interi viene divisa per il loro numero e si esprime il risultato in relazione a 1000 semi.

- **Procedura analitica**

*Quantità richiesta:* 100 g di campione.

Si prende un'aliquota di campione pari approssimativamente alla massa di 500 chicchi e si pesa con un'accuratezza di 0,01 g. Successivamente vengono separati i chicchi accoppiati, selezionati ed isolati i chicchi interi e pesato il residuo composto da eventuali impurezze e chicchi spezzati. Per differenza viene calcolata la massa dei chicchi interi.

Infine viene eseguita la conta di questi ultimi a mano. Il conteggio dei semi con metodo manuale può essere sostituito utilizzando strumenti automatici o semiautomatici come ad esempio un contatore di semi fotoelettrico, a condizione che i risultati siano confrontabili.

La massa "m" mille chicchi tal quale è data dalla formula:

$$m = \frac{m_0 \cdot 100}{N}$$

dove:  $m_0$  = massa in grammi dei chicchi interi;  $N$  = numero di chicchi interi della massa  $m_0$ .

Le differenze dei risultati delle prove eseguite in duplicato non devono superare il 6% per i chicchi aventi una massa maggiore di 25 g per mille chicchi ed il 10% per gli altri.

### 3.1.3. Determinazione della vitrosità

- **Riferimento bibliografico**  
UNI EN 15585; ICC 129.

- **Campo di applicazione**  
Cariossidi di frumento duro.

- **Scopo**

La metodica specifica una procedura per la determinazione della proporzione di cariossidi vitree in un campione di granella di frumento duro.

### ■ Definizioni

*Cariossidi vitree*: grano (duro) translucido, il cui chicco tagliato ha una superficie levigata, lucida, senza alcuna apparenza farinosa.

*Cariossidi non completamente vitree o bianconate*: grano duro i cui chicchi non possono essere considerati vitrei secondo le condizioni definite nel metodo.

### ■ Principio del metodo

Rimuovere ogni impurezza, ivi comprese le cariossidi di frumento tenero, tramite setacciamento o rimozione manuale. Separare le cariossidi vitree e quelle visibilmente non completamente vitree; nei casi di incertezza verificare lo stato di vitrosità delle cariossidi mediante taglio con bisturi.

### ■ Strumentazione necessaria

Staccio (con lamiera perforata e fessure di 1,80 mm × 20,0 mm), bisturi, bilancia (accuratezza 0,1 g).

### ■ Procedura analitica

Pesare approssimativamente 100 g del campione di laboratorio usando un separatore di campioni (vedi campionamento). Mettere il campione nello staccio e scuotere manualmente o meccanicamente per 30 secondi, scartando il materiale che passa attraverso lo staccio. Rimuovere manualmente ogni impurezza presente nel campione rimasto sullo staccio, ivi comprese le cariossidi di frumento tenero. Stendere l'aliquota di campione su una superficie piana, esaminare individualmente ciascuna cariosside ad occhio nudo. Separare tutte le cariossidi vitree da quelle non completamente vitree, utilizzando il bisturi per tagliare le cariossidi e verificarne l'aspetto farinoso all'interno e riunendo poi le parti tagliate. Pesare separatamente le cariossidi vitree e quelle non completamente vitree.

La proporzione di cariossidi vitree è ottenuta dalla formula:

$$\text{proporzione di cariossidi vitree} = \frac{m_1}{m_1 + m_2} \cdot 100$$

dove:  $m_1$  è la massa in g delle cariossidi vitree;  $m_2$  è la massa in g delle cariossidi non completamente vitree.

Le determinazioni debbono essere effettuate almeno in duplicato sullo stesso campione di laboratorio.

### 3.1.4. Determinazione delle difettosità e impurità

#### ■ Riferimento bibliografico

UNI 10273 (frumento duro); UNI 10279 (frumento tenero).

#### ■ Campo di applicazione

Il metodo si può applicare alle cariossidi di tutti i cereali, qui è riportato in dettaglio per il frumento.

#### ■ Scopo

Valutare e quantificare le impurezze e le difettosità delle partite di cereali.

### ■ Principio del metodo

Il metodo ha come obiettivo la separazione, l'identificazione o classificazione e la determinazione quantitativa percentuale di tutti gli elementi di impurità e di difettosità precedentemente definiti; tutta l'operazione è eseguita manualmente. Le impurità e difettosità sono diverse a seconda del cereale considerato, non cambia comunque la procedura di base.

Nello specifico viene riportato il metodo per il frumento duro.

### ■ Definizioni delle difettosità

*Chicchi non completamente maturi*: chicchi di grano che non hanno raggiunto la completa maturazione e sono caratterizzati da una colorazione verde o verdastra.

*Chicchi spezzati*: chicchi di grano il cui endosperma è parzialmente scoperto indipendentemente dal motivo; appartengono a questo gruppo anche i chicchi ai quali manca il germe.

*Chicchi attaccati da parassiti*: chicchi di grano che presentano tarlature o che comunque abbiano perso parte della loro sostanza a seguito dell'attacco di insetti, predatori, topi e acari; appartengono a questo gruppo anche i chicchi punti dalle cimici, definiti anche puntati o cimiciati.

*Chicchi germinati*: sono chicchi di grano in cui si vede chiaramente a occhio nudo la radichetta o la piumetta; non sono considerati tali i chicchi che presentano un semplice rigonfiamento in corrispondenza del germe o che comunque non presentano una evidente modifica morfologica in quella posizione.

*Chicchi riscaldati*: chicchi di grano che presentano colorazione rosso-bruna (torrefazione) a seguito di eccessivo calore da fonti esterne; non vanno confusi con i chicchi ribolliti per autoriscaldamento (che costituiscono voce di difettosità specifica).

*Chicchi avariati*: chicchi di grano il cui aspetto presenta evidenti segni di alterazioni causate da muffe e batteri; sono compresi in questo gruppo i chicchi attaccati dalle cecidomie quando oltre il 50% del chicco è stato invaso, mentre in caso di attacco minore del 50% della superficie il chicco va considerato nel gruppo definito. Non fanno parte di questo gruppo i chicchi fusariati e volpati (che costituiscono voci di difettosità specifiche).

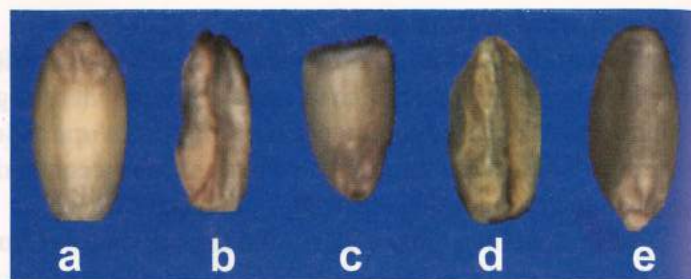
*Chicchi ribolliti*: chicchi di grano il cui aspetto presenta evidenti segni di alterazioni causate da autoriscaldamento; si riconoscono fondamentalmente dal colore del tegumento che va dal grigio bruno al rossastro ed al nero.

*Chicchi cariati*: chicchi attaccati dalle spore della carie del grano (*Tilletia* spp) e si riconoscono dalla presenza più o meno accentuata di una polvere scura/nera che emana un fetido odore di pesce. Appartengono a questo gruppo anche i chicchi attaccati da tali spore solo esternamente.

*Chicchi con germe scuro*: chicchi il cui germe presenta colorazioni che vanno dal bruno al nero.

*Chicchi fusariati*: chicchi di grano che presentano evidenti segni di attacco del micelio del *Fusarium* e sono caratterizzati dalla presenza di macchie più o meno diffuse di colore bianco, rosa e rosso.

*Chicchi striminziti*: chicchi di grano le cui dimensioni sono rese anomale a causa di insufficiente maturazione, di disidratazione spinta o altro. Dal punto di vista pratico sono considerati tali tutti i chicchi che passano sotto uno staccio



**FIGURA 14.16** Esempi di difettosità: a) bianconato; b) puntato; c) spezzato; d) striminzito; e) vitreo.

con maglie di 1,9 mm × 20,0 mm e che restano sopra uno staccio con maglie di 1,0 mm × 20,0 mm.

**Chicchi volpati:** chicchi di grano che presentano colorazione bruno/nere sul pericarpo con esclusione del germe.

**Chicchi puntati:** chicchi di grano che presentano una colorazione scura sulla punta (difetto che può essere tolto in fase di macinazione).

**Pule e paglie:** sono compresi in questo gruppo tutti gli elementi vegetali e loro frammenti che fanno parte della spiga del grano duro, sia in forma separata che posizionati ancora intorno al chicco di grano.

#### ■ Definizioni delle impurità

**Corpi estranei:** tutto ciò che non appartiene al mondo vegetale. Insetti e loro frammenti e quant'altro appartiene al mondo animale.

**Altri cereali:** chicchi di cereali diversi dal grano duro, con esclusione del grano tenero (che costituisce voce d'impurità specifica).

**Segale cornuta:** è uno sclerote, cioè l'organo di vita latente del fungo parassita *Claviceps purpurea*; è riconoscibile dalla caratteristica forma a banana di colore generalmente nero ed emana un odore sgradevole. È considerato altamente tossico per il suo contenuto dell'alcaloide ergotina.

**Pule e paglie:** di questo gruppo fanno parte tutti gli elementi vegetali sia separati che ancora attaccati che fanno parte della spiga di grano.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 25 g (procedura N° 1) di campione; 100 g (procedura N° 2) di campione.

**N° 1:** 2 kg di granella vengono prelevati e distribuiti in modo omogeneo su un piano di lavoro. La massa viene divisa in quattro sezioni di spessore uguale che poi saranno riunite prima del prelievo della quantità richiesta per l'esecuzione del test, che è di circa 25 g (campione isolato).

La quantità prelevata viene setacciata per eliminare le paglie e i corpi estranei; il resto viene esaminato per determinare e individuare le impurezze elencate.

**N° 2:** 2 kg di granella vengono prelevati e distribuiti in modo omogeneo su un piano di lavoro. La massa viene divisa in quattro sezioni di spessore uguale che poi saranno riunite prima del prelievo della quantità richiesta per l'esecuzione del test, che è di circa 100-110 g (campione isolato).

Versare il campione per l'analisi sullo staccio mostrato in figura e stacciare per 1 minuto il tutto, separando i chicchi difettati e le impurità; infine pesare

per mezzo di una bilancia i contenuti delle varie "coppette" e riportare le diverse masse alla massa del campione di grano isolato.

Il materiale costituito dai corpi estranei, dalle pule e paglie viene aggiunto a quello già isolato e va a costituire la voce "Impurità propriamente dette" senza nessuna ulteriore distinzione.

### 3.1.5. Determinazione delle impurità solide (Filth test)

#### ■ Riferimento

G.U. n° 64 del 18/3/1999.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero e di grano duro.

#### ■ Scopo

Determinare le impurità solide negli sfarinati e nei prodotti di trasformazione.

#### ■ Definizioni

Impurità solide negli sfarinati e derivati sono le impurità aventi origine:

- animale (uova, larve, ninfe o adulti di insetti, e relativi frammenti, acari e loro frammenti, peli di roditori e loro frammenti, peli di ovini e loro frammenti, peli umani e loro frammenti);
- vegetale (peli e fibre di vegetali e loro frammenti);
- sintetica (fibre sintetiche e loro frammenti, pezzetti di plastica).

#### ■ Principio del metodo

Si sottopone il campione a digestione acetico-nitrica all'ebollizione e si separano le impurità presenti per flottazione che vengono poi osservate per microscopia.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 50 g di campione.

**Campionamento:** una quantità di campione minima di 600 g è prelevata e distribuita in modo omogeneo con una spatola; 50 g vengono prelevati in più punti e pesati.

**Materiali e reattivi:** idrato di cloralio 100 g; acqua distillata 150 g; glicerina 40 g; gomma arabica 60 g.

Filtro di tela (nylon o polietilene) a maglie di apertura 10-11 micron al massimo, resistente a solventi acidi.

**Idrolisi acetico-nitrica:** 50 g di campione (le determinazioni dovrebbero essere effettuate in duplicato) si introducono in una beuta da 1 litro a collo smerigliato servendosi di un imbuto di vetro per polveri. Dopo aver introdotto nella beuta un'ancoretta magnetica, si aggiungono, sotto cappa, 300 mL di acido acetico al 30%, 15 mL di acido nitrico al 65%, 3-4 mL di alcol isoamilico con funzione antischiama. Si innesta il refrigerante sulla beuta e si riscalda su agitatore magnetico riscaldante portando gradualmente all'ebollizione. Si lascia bollire per 5-10 minuti, fino all'idrolisi completa del campione.

Se il campione contiene crusca, il tempo di ebollizione va prolungato a 15 minuti. Dopo aver ricoperto la beuta con un parafilm, la si introduce in un cri-



stallizzatore, raffreddandola con una circolazione di acqua fredda fino a temperatura ambiente.

**Separazione delle impurità:** La soluzione raffreddata viene trasferita nella beuta Wildman raccogliendo con alcool i residui dalla beuta precedente. Si aggiunge ancora alcool al 60% fino a un volume di circa 700 mL, poi 30-40 mL di benzina e infine si raggiungono i  $2\frac{1}{3}$  del collo della beuta con alcool. Si agita vigorosamente e si lascia a riposo per 5 minuti. Si ripete l'agitazione diverse volte, a intervalli di 1 minuto, affinché la benzina e le impurità presenti salgano in superficie per flottazione. In un imbuto Buchner viene posizionato con una pinzetta un disco di carta da filtro, bagnato con acqua distillata e fatto aderire al fondo per aspirazione.

**Filtrazione:** Con il tappo di gomma si intrappola nel collo della beuta Wildman lo strato di benzina che contiene la maggior parte delle impurità presenti e si versa nell'imbuto. La successiva osservazione microscopica verrà facilitata versando nell'imbuto anche 10 mL di soluzione di blu di metilene, lavando subito dopo il filtro con 10-20 mL di alcool etilico al 60% per diminuire l'intensità della colorazione. Si ripete l'operazione aggiungendo nuovamente benzina alla beuta, agitando e lasciando a riposo per 5 minuti. Si intrappola e filtra lo strato superiore. Si ripete una terza volta. Dopo aver asciugato sotto vuoto la carta da filtro, la si depone con una pinzetta in una capsula Petri. Si esamina la carta da filtro al microscopio stereoscopico. Si fa una prima osservazione a  $25\times-50\times$ .

**Esame microscopico:** Si procede all'identificazione e al conteggio dell'impurità. Un ago può essere utile per spostare i frammenti in parti libere del filtro, per un loro migliore riconoscimento. Nel caso l'identificazione sia difficoltosa, si preparano dei vetrini dei frammenti con liquido di Faure, utilizzando poi il microscopio a maggiore ingrandimento ( $100\times$ ,  $600\times$ ).

Per ogni filtro, annotare il numero delle impurità di origine animale per i seguenti tipi:

- peli di roditori e loro frammenti;
- insetti interi (larve, ninfe o adulti);
- frammenti di insetti, uova, acari (specificarli nella separazione).

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate simultaneamente o in rapida successione dallo stesso operatore, non deve essere superiore a 10 frammenti.

### 3.1.6. Determinazione del contenuto di umidità

#### ■ Riferimento bibliografico

G.U. n° 145 del 21/6/1985, UNI EN ISO 712.

#### ■ Campo di applicazione

Il metodo si applica ai cereali in granella ai loro sfarinati e ai prodotti da essi derivati, non si applica al mais in granella con umidità  $>20\%$ .

#### ■ Scopo

Il metodo specifica una procedura di routine per determinare il contenuto di umidità di cereali e derivati.

#### ■ Definizione

Si intende per contenuto in umidità la perdita di peso, espressa in percentuale, subita dal prodotto nelle condizioni descritte di seguito.

#### ■ Principio del metodo

Il prodotto viene essiccato a  $130-133\text{ }^\circ\text{C}$  a pressione atmosferica, per una durata stabilita in funzione delle dimensioni delle particelle.

#### ■ Strumentazione necessaria

Bilancia analitica (precisione  $0,001\text{ g}$ ), stufa ed eventualmente macinino da laboratorio.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 10 g di campione nel caso di sfarinati e paste; 5 g di campione nel caso di cereali a piccoli chicchi; 8 g di campione nel caso di granoturco.

I cereali in chicchi vengono ridotti, tramite macinazione su molinetto da laboratorio, in sfarinati di cui almeno il 50% deve passare attraverso un setaccio a maglie di  $0,5\text{ mm}$  e non più del 10% deve rimanere sul setaccio a maglie di  $1\text{ mm}$ . Per i prodotti granulari verificare la rispondenza granulometrica prima di iniziare la procedura o procedere a macinazione.

I campioni di pasta vengono macinati finemente in modo che passino attraverso un setaccio a maglie di  $0,3\text{ mm}$  ca.

Preliminarmente i pesafiltri vuoti subiscono un condizionamento iniziale in stufa.

Pesare i pesafiltri vuoti e raffreddati, quindi mettere circa  $5\text{ g}$  di campione all'interno e pesare nuovamente; lasciare essiccare la sostanza per circa due ore nel caso di sfarinati e di paste alimentari, a decorrere dal momento in cui la stufa ha raggiunto la temperatura di  $130\text{ }^\circ\text{C}$ , fino comunque al raggiungimento di peso costante.

Togliere i recipienti dalla stufa, lasciar raffreddare per  $30-45\text{ min}$  in un essiccatore e pesarli.

Il tenore di umidità in percentuale del prodotto tal quale si ottiene con la seguente formula:

$$\text{Umidità \%} = \frac{(A - B) \cdot 100}{A}$$

dove: A = massa iniziale del campione; B = massa, in grammi del campione secco.



FIGURA 14.17 Bilancia termica.

Il metodo può essere sostituito utilizzando strumenti automatici o semiautomatici (es. bilancia termica), a condizione che i risultati siano confrontabili.

### 3.1.7. Metodo per la determinazione delle ceneri

■ **Riferimento bibliografico**

UNI EN ISO 2171.

■ **Campo di applicazione**

Sfarinati di cereali e di prodotti derivati.

■ **Scopo**

Valutare la quantità di sostanze minerali contenute nei cereali.

■ **Principio del metodo**

Incenerimento del campione a  $550 \pm 10$  °C o a  $900 \pm 25$  °C e pesata del residuo.

La prima opzione (550 °C) è applicabile a prodotti derivati dai cereali, oltre che a prodotti macinati destinati al consumo umano, a farine miste usate per la fabbricazione dei prodotti dietetici e a leguminose e loro prodotti derivati. La seconda opzione (900 °C) è applicabile a cereali e prodotti di cereali macinati destinati al consumo umano e viene generalmente scelta in contrattazioni commerciali richiedendo tempi inferiori.

■ **Strumentazione necessaria**

Bilancia analitica, muffola ed eventualmente macinino da laboratorio.

■ **Procedura analitica**

*Quantità richiesta:* 20 g circa di campione.

I campioni debbono essere macinati con macinino da laboratorio per ottenere una granulometria delle particelle minore o uguale a 1,7 mm, in particolare la quota di particelle di dimensioni  $\leq 0,5$  mm deve essere superiore al 50% e quella di particelle  $\geq 1$  mm non superiore al 10%.



FIGURA 14.18 Muffola.

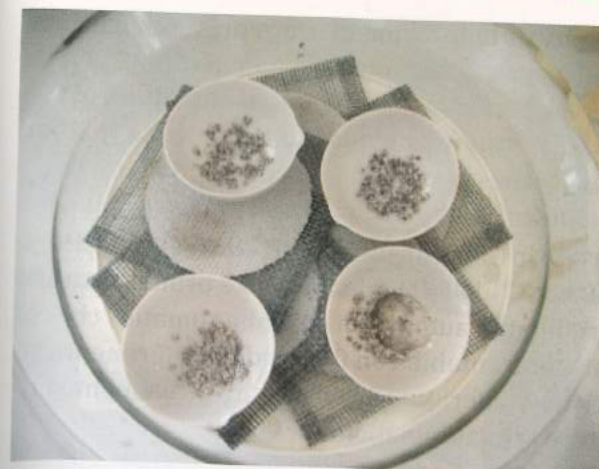


FIGURA 14.19 Capsule dopo incenerimento.

*Pesata e pre-incenerimento:* Pesare da 2 a 6 g di prodotto (a seconda della resa in ceneri attesa) in una capsula di quarzo (pesata con precisione di 0,001 g); porre la capsula sul bordo dello sportello di apertura della muffola fino a che il campione prende fuoco. Evitare con cura una troppo rapida combustione così da non far fuoriuscire le particelle di materiale.

*Incenerimento:* Appena le fiamme sono estinte, collocare la capsula dentro il forno a muffola precedentemente riscaldato a  $550 \pm 10$  °C.

Continuare l'incenerimento fino a completa combustione del materiale, includendo tutte le particelle carboniose contenute nel residuo.

Per completare l'incenerimento rimuovere le capsule (Figura 14.19) dal forno, collocarle su una piastra resistente al calore e inumidire con poche gocce di acqua distillata il campione. Riporre le capsule in muffola fino a incenerimento completato (ceneri chiare).

*Pesata del residuo:* Quando l'incenerimento è completato rimuovere le capsule dalla muffola; raffreddarle per un minuto e quindi porle in un essiccatore.

Appena raggiunta la temperatura ambiente, pesarle rapidamente con una bilancia con precisione di 0,0001 g.

Il contenuto in ceneri è ottenuto dalla formula:

$$\% \text{ ceneri t. q.} = \frac{\text{g residuo} \cdot 100}{\text{g iniziali}}$$

$$\% \text{ ceneri s. s.} = \frac{\% \text{ ceneri t. q.} \cdot 100}{100 - \% \text{ umidità}}$$

La differenza tra i risultati delle analisi effettuate in duplicato dallo stesso operatore non dovrebbe eccedere:

- 0,02 (valore assoluto) per quantità di ceneri inferiori all'1%;
- 2% della media per quantità di ceneri maggiori dell'1%.

### 3.1.8. Determinazione del contenuto in sostanze azotate

Per la determinazione di questo importante parametro esistono diverse metodiche; di seguito vengono descritte due metodiche entrambe considerate di riferimento:

- il metodo Kjeldahl che determina essenzialmente l'azoto proteico;

- il metodo Dumas che determina tutte le forme di azoto presenti nella matrice.

## A. Metodo Kjeldahl

### ■ Riferimento bibliografico

Il metodo base è quello riportato in Gazzetta ufficiale n° 186 del 10/8/1994; altri riferimenti UNI EN ISO 20483 o ICC 105/1. Tale metodo è ormai sostituito in tutto o in parte con metodi strumentali automatici o semiautomatici, che comunque debbono fornire risultati confrontabili con il metodo di riferimento.

La metodica di seguito descritta si riferisce alla procedura attualmente utilizzata impiegando apparecchiature semiautomatiche.

### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di frumento e di altri cereali e loro prodotti di trasformazione.

### ■ Scopo

Valutare la quantità di sostanze azotate contenute nei cereali o nei loro prodotti di trasformazione.

### ■ Definizione di sostanza azotata

Per "sostanze azotate" si intende il contenuto di composti azotati nella matrice analizzata, calcolato moltiplicando il corrispondente contenuto in azoto per un fattore convenzionale.

### ■ Principio del metodo

Le sostanze azotate presenti nel campione sono ossidate con acido solforico concentrato in presenza di un catalizzatore; il solfato di ammonio che si forma nella reazione è trattato con alcali e l'azoto, liberato sotto forma di ammoniaca, viene distillato e titolato.

### ■ Strumentazione necessaria

Bilancia analitica, unità di mineralizzazione, unità di distillazione, buretta graduata per titolazione o titolatore automatico.

### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** il metodo Kjeldahl nella versione base prevede un peso del campione di 1-2 g, nella versione micro (quella comunemente adottata) di 200 mg di campione.

La procedura consta di 3 distinte fasi: mineralizzazione, distillazione, titolazione.

**1. Mineralizzazione:** 200 mg di campione (granulometria delle particelle al 90%  $\leq 1$  mm) sono posti dentro dei provettoni con aggiunta di 8 mL di acido solforico concentrato al 96% p/v, 1% di un catalizzatore selenico e 2 mL di acqua ossigenata. L'unità di mineralizzazione può contenere da 6 a 12 alloggi per i provettoni. La mineralizzazione avviene ad una temperatura di esercizio di 450 °C per un tempo di circa 2 ore; al termine i campioni devono risultare incolori.

**2. Distillazione:** Nei provettoni si aggiungono 2-3 gocce di indicatore rosso



**FIGURA 14.20** Unità di mineralizzazione.



**FIGURA 14.21** Unità di distillazione.

metile per valutarne il viraggio da rosa fucsia a giallo; gli stessi vengono posti nell'apposita unità di distillazione. La distillazione stessa avviene in ambiente alcalino tramite aggiunta di 50 mL di acqua e 50 mL di idrossido di sodio al 32%. Il distillato viene raccolto in beute da circa 250 mL contenenti 20 mL di acido bórico al 2%.

**3. Titolazione:** L'azoto raccolto viene titolato con acido solforico 0,05 N dopo l'aggiunta di 5-6 gocce indicatore misto (rosso metile+verde di bromocresolo), fino a completo viraggio visibile dal cambiamento cromatico del liquido (da verde a rosa-lilla).

Effettuare una prova in bianco con 5 mL di una soluzione standard di cloruro d'ammonio (0,3284 g cloruro d'ammonio in 100 mL di acqua) a cui vengono aggiunti i reattivi seguendo la stessa procedura sopra descritta, a partire dalla fase di distillazione.

Il contenuto in sostanze azotate per 100 g di materiale è ottenuto dalla formula:

$$\% \text{ sostanze azotate t. q.} = \frac{V_1 \cdot 5}{V_0} \cdot \frac{F_c \cdot 1 \cdot 100}{C}$$

dove:

5 = volume (in mL) di soluzione di ammonio cloruro;

$V_0$  = volume di acido solforico 0,05 N utile per titolare 5 mL di ammonio cloruro;

$V_1$  = volume di acido solforico 0,05 N utilizzato per titolare il campione in esame;

C = peso campione (200 mg);

100 = calcolo percentuale;

$F_c$  = fattore di conversione della matrice analizzata.

#### Fattori di conversione per alcuni cereali

Fattori di conversione	Cereali
5,7	Frumento
6,25	Avena-Mais
5,85	Orzo
5,95	Riso

Nel caso in cui il contenuto in sostanze azotate debba essere espresso come % di sostanza secca, la formula sarà:

$$\% \text{ sostanze azotate su s. s.} = \frac{\% \text{ sostanze azotate t. q.} \cdot 100}{100 - \% \text{ umidità}}$$

La differenza tra i valori ottenuti da due determinazioni condotte in rapida successione non deve essere maggiore di 0,03 per valori di azoto minori del 3% e non deve essere maggiore di 0,05 per valori di azoto compresi tra 3 e il 6%.

## B. Metodo Dumas a combustione

### ■ Riferimento bibliografico

UNI EN ISO/TS 16634 parte 2; AACC n. 46-30; AOAC n. 992.23; ICC 167.

### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di cereali e prodotti derivati.

### ■ Principio del metodo

Il metodo prevede che il campione venga bruciato per combustione con ossigeno, generando una miscela di ossidi di azoto ed altri gas; gli ossidi di azoto vengono ridotti da un catalizzatore ad azoto elementare e quindi quantificati attraverso un detector a conducibilità termica, mentre gli altri gas vengono eliminati per assorbimento selettivo.

### ■ Strumentazione necessaria

Analizzatore azoto a combustione, bilancia analitica.



**FIGURA 14.22** Esempio di strumento automatico per il metodo a combustione Dumas.

### ■ Procedura analitica

*Quantità richiesta:* 100-150 mg di campione.

Il metodo viene eseguito con strumentazioni completamente automatizzate che permettono di effettuare una determinazione completa dell'azoto in pochi minuti.

La procedura di analisi può variare in funzione delle caratteristiche definite per il tipo di strumento utilizzato. In generale, dopo che la fornace ha raggiunto la temperatura di combustione di 950 °C si effettua il controllo dei flussi dei gas per verificare eventuali perdite del sistema.

Il profilo di flusso dell'ossigeno viene utilizzato come "bianco" per ottenere una linea base "zero" di inizio lavoro.

*Calibrazione:* Questa operazione è indispensabile per la buona conduzione della prova e dovrà essere effettuata ogni volta che si utilizza lo strumento.

La calibrazione dello strumento viene effettuata con un composto standard di azoto, generalmente per cereali e derivati viene utilizzato EDTA (9,57% N).

Analizzare n°5 campioni di EDTA (60-70 mg) e calibrare lo strumento in base alla ripetibilità dei dati ottenuti. Utilizzare un ultimo campione di EDTA per validare la calibrazione appena ottenuta.

*Analisi:* Pesare i campioni (180-200 mg) direttamente nelle apposite capsule, inserire i dati identificativi dei campioni e delle pesate e avviare l'analisi. L'analisi termina dopo circa 160 secondi. Lo strumento dotato di un PC interno, previo inserimento del fattore di conversione e della % di umidità, permette l'elaborazione in tempo reale del dato di azoto ottenuto e la trasformazione in % di proteine totali su sostanza secca, ottimizzando così i tempi di lavoro.

### 3.1.9. Determinazione del contenuto in amido

Le metodiche in uso sono basate o sulla proprietà dell'amido di deviare la luce polarizzata o sull'idrolisi dell'amido a glucosio e successiva quantificazione dello stesso.

### ■ Riferimento bibliografico

Pharmacopoeia Internationalis: Ed. OMS Genève; Vol II, S. 285.

### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di cereali e prodotti di trasformazione.

### ■ Scopo

Valutare la quantità di amido contenuto nei cereali o nei loro prodotti di trasformazione.

### ■ Principio del metodo

L'amido, per idrolisi acida, è trasformato in zuccheri riducenti che sono dosati volumetricamente mediante il liquido di Fehling.

### ■ Procedura analitica

*Quantità richiesta:* 5-10 g di campione.

In un pallone da circa 250 mL è posto un campione corrispondente ad una quantità d'amido di circa 1 g.

Vengono aggiunti 100 mL di acqua distillata e 2 mL di acido cloridrico di densità 1,19 e portati a ebollizione a refluxo per 3 ore; il tutto, al termine, è travasato in un pallone tarato da 200 mL, aggiungendovi una soluzione di potassa caustica fino ad ottenere una reazione leggermente acida. Il volume è aggiustato con acqua distillata a 200 mL ed il tutto filtrato su carbone decolorante.

Successivamente versare la soluzione in una buretta e ridurre 10 mL di liquido di Fehling secondo il metodo seguente: in un pallone a fondo piatto da circa 250 mL versare 10 mL di liquido di Fehling (5 mL di soluzione A e 5 mL di soluzione B). Agitare fino ad ottenere una soluzione limpida, poi aggiungere 40 mL di acqua distillata e una piccola quantità di quarzo o di pietra pomice.

Riscaldare il pallone in modo che il liquido entri in ebollizione dopo 2 minuti circa.

Aggiungere, al liquido in ebollizione, la soluzione zuccherina tramite una buretta, finché il colore azzurro del liquido di Fehling diventa appena percettibile; aggiungere poi come indicatore 2 o 3 gocce di soluzione di blu di metilene all'1%. Completare la titolazione aggiungendo goccia a goccia la soluzione zuccherina fino alla scomparsa del colore azzurro dell'indicatore.

L'analisi va effettuata in duplicato.

#### • Soluzione di Fehling

– *Soluzione A:* sciogliere in un pallone tarato, mediante acqua distillata, 69,278 g di solfato di rame cristallizzato puro per analisi esente da ferro, e portare la soluzione al volume di 1 litro mediante acqua distillata. Il titolo esatto di questa soluzione dovrà essere verificato mediante determinazione quantitativa del rame.

– *Soluzione B:* sciogliere, in un pallone tarato, mediante acqua distillata, 100 g di idrossido di sodio e 346 g di bitartrato di sodio e di potassio (sale di Seignette) e portare la soluzione al volume di 1 litro mediante acqua distillata.

Le due soluzioni A e B devono essere mescolate in volume uguale immediatamente prima di essere impiegate. Seguendo il procedimento, 10 mL di liquido di Fehling (5 mL di soluzione A e 5 mL di soluzione B) risultano completamente ridotti da 0,04945 g di destrosio anidro.

La percentuale (in peso) di amido nel campione è espressa dalla seguente formula:

$$\text{amido \%} = \frac{T \cdot 200 \cdot 100}{n \cdot p} \cdot 0,90$$

dove:

T = quantità in grammi di destrosio anidro corrispondente a 10 mL di liquido di Fehling (5 mL di soluzione A + 5 mL di soluzione B). Questo titolo è di 0,04945 g di destrosio anidro quando la soluzione A contiene 17,636 g di rame per litro;

n = volume espresso in mL della soluzione zuccherina impiegata per la titolazione;

p = peso del campione;

0,90 = indice di conversione del destrosio anidro in amido.

Il metodo descritto può essere sostituito con metodi chimico-enzimatici, ormai largamente utilizzati in quanto sono facilmente reperibili in commercio diverse tipologie di kits analitici. L'amido è inizialmente idrolizzato, solubilizzato e successivamente ridotto a glucosio mediante l'azione di enzimi (amilasi e amiloglicosidasi); il glucosio è quindi determinato enzimaticamente (es: gluco-siossidasi-perossidasi) e misurato per via spettrofotometrica (ICC 128/1).

### 3.1.10. Determinazione del contenuto in grassi totali

#### ■ Riferimento bibliografico

G.U. n° 186-1994; ICC 136; ISO 7302.

#### ■ Campo di applicazione

Cereali e prodotti di trasformazione.

#### ■ Scopo

Valutare la quantità di sostanze grasse presenti nei cereali e nei loro prodotti di trasformazione.

#### ■ Principio del metodo

Il prodotto macinato viene idrolizzato con soluzione diluita di acido cloridrico. Le sostanze grasse vengono estratte con una miscela di volumi uguali di etere etilico ed etere di petrolio e pesate dopo eliminazione del solvente.

#### ■ Procedura analitica

*Quantità richiesta:* 10g di campione.

Effettuare, in parallelo con la determinazione sul campione, una prova in bianco.

*Idrolisi:* Pesare esattamente circa 2 g di prodotto finemente macinato ed introdurlo in una beuta da 100 mL; aggiungere 2 mL di alcool etilico 95% e mescolare per agitazione. Aggiungere 10 mL della soluzione di acido cloridrico (25 mL di acido cloridrico al 37% con 110 mL di acqua distillata). Porre la beuta nel bagnomaria a 70-80 °C, lasciarla per circa 30 minuti agitando spesso.

*Estrazione:* Dopo raffreddamento aggiungere 10 mL di alcool etilico 95%, trasferire in un cilindro da 100 mL con tappo a smeriglio, lavare la beuta con tre porzioni di etere etilico per un totale di 25 mL ed agitare. Aggiungere 25 mL di etere di petrolio (intervallo di ebollizione 40-60 °C) ed agitare di nuovo. Lasciar separare le fasi e trasferire lo strato eterico in un pallone da 200 mL con collo a smeriglio, precedentemente tarato, filtrando attraverso un imbuto con setto poroso contenente uno strato di solfato sodico anidro di circa 10 g. Estrarre an-

cora due volte con 25 mL della miscela in volumi uguali di etere etilico ed etere di petrolio agitando ogni volta e lasciando separare le fasi nel pallone. Portare quasi a secco la frazione eterea raccolta. Completare l'eliminazione del solvente tenendo il pallone in stufa a 100 °C fino a peso costante (circa 75 minuti). Pesare il pallone dopo raffreddamento all'aria.

Calcolare il contenuto in sostanze grasse, espresso su 100 grammi di sostanza secca, mediante la formula:

$$\text{Sostanze grasse \% s. s.} = \frac{(P - P_0) - (B - B_0)}{C} \cdot 100 \cdot \frac{100}{(100 - U)}$$

dove:

P<sub>0</sub> = peso del pallone vuoto;

P = peso del pallone con l'estratto;

B<sub>0</sub> = peso del pallone vuoto usato per il bianco;

B = peso del pallone dopo la prova in bianco;

C = peso del campione;

U = umidità percentuale del campione.

Il metodo riferimento può essere sostituito in tutto o in parte con metodi strumentali automatici o semiautomatici, a condizione che i risultati siano confrontabili. Un esempio di apparecchiatura semiautomatica è il Soxtec.

#### ■ Procedura analitica "Soxtec"

La seguente procedura è basata sullo stesso principio, ma utilizza un sistema automatico di estrazione. Tramite estrazione chimica con un solvente ad una temperatura di esercizio definita che varia in funzione appunto del solvente utilizzato, i grassi vengono estratti e poi raccolti in tazze di alluminio e determinati per via gravimetrica dopo eliminazione del solvente.



FIGURA 14.23 Sistema automatico Soxtec.

**Estrazione:** L'analisi viene eseguita in duplicato parallelamente; 5 g di campione (granulometria 0,5 mm di Ø) sono posti dentro dei ditali di carta coperti da ovatta preventivamente sgrassata e poi inseriti nello specifico alloggiamento dello strumento e immersi per una notte a 100 °C in tazze di alluminio (precedentemente tarate) contenenti 30 mL di isopropanolo (temperatura di esercizio 18 °C impostata nell'unità di riscaldamento).

Il tempo di contatto è di 35 minuti; trascorso tale tempo si alzano i ditali tramite delle leve e si fanno sgocciolare per circa 15 minuti. Al termine tenere alzate le leve Air per circa 5 minuti; i grassi vengono raccolti nel fondo della tazza.

Le tazze sono poste in stufa per circa 45 minuti per far evaporare i residui di solvente, dopo sono poste in essiccatore fino a raffreddamento e in ultimo pesate.

La percentuale in grassi del prodotto tal quale si ottiene con la seguente formula:

$$\% \text{ grassi t. q.} = \frac{(A - B) \cdot 10}{C}$$

dove:

A = massa della tazza più il campione estratto;

B = massa della tazza vuota;

C = massa iniziale del campione.

$$\text{Sostanze grasse \% s. s.} = \frac{\% \text{ grassi t. q.} \cdot 100}{100 - \% \text{ umidità}}$$

### 3.1.11. Determinazione del contenuto in steroli

#### ■ Riferimento bibliografico

G.U. n° 186-1994; AOAC 14.141.

#### ■ Campo di applicazione

Paste alimentari all'uovo.

#### ■ Scopo

Verificare il numero di uova impiegate nella preparazione delle paste alimentari all'uovo.

#### ■ Definizione

Gli steroli rappresentano la frazione lipidica precipitata con digitonina secondo il metodo descritto.

#### ■ Principio del metodo

La matrice grassa dalla pasta all'uovo viene estratta con acetone e gli steroli, precipitati dall'estratto acetone con digitonina, sono determinati per pesata come digitonide.

### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 50 g di campione.

**Idrolisi del campione:** Macinare il campione di pasta ottenendo un macinato che passi attraverso il setaccio con maglie di luce 0,25 mm. Pesare esattamente 5 g del campione macinato, introdurli nel pallone da 300 mL a tappo smeriglio e aggiungere 20 mL della soluzione di cloridrico al 37% diluita 1:1 con acqua distillata. Scaldare il pallone, con refrigerante a ricadere, su bagnomaria bollente per 30 minuti agitando spesso. Raffreddare sotto il rubinetto e, durante il raffreddamento, aggiungere 20 g di idrato di potassio in pastiglie a porzioni piccole in modo da evitare l'ebollizione del liquido ed eventuali perdite per spruzzi. Raffreddare completamente ed aggiungere 20 mL di alcool etilico al 95% lavando le pareti del pallone; scaldare di nuovo su bagnomaria bollente per 45 minuti, con refrigerante a ricadere, agitando spesso. Togliere il pallone dal bagnomaria, aggiungere 25 mL di acqua fredda, mescolare e raffreddare.

**Estrazione:** Aggiungere 50 mL di etere etilico, agitare e trasferire in un imbuto separatore da 500 mL. Lavare il pallone successivamente con 25 mL e 10 mL di etere etilico e con 50 mL della soluzione acquosa di idrato di potassio all'1%, aggiungendo i lavaggi nell'imbuto separatore. Ruotare l'imbuto separatore per circa un minuto evitando la formazione di emulsioni; lasciar separare le fasi. Trasferire lo strato inferiore in un imbuto separatore da 250 mL, trattando l'eventuale emulsione. Lavare lo strato etero rimasto nel primo imbuto separatore con 5 mL della soluzione di idrato di potassio all'1% e raccogliere nuovamente la fase acquosa nel secondo separatore. Versare 25 mL di etere etilico nel secondo imbuto separatore ed agitare per 1 minuto.

Dopo conveniente riposo, eliminare lo strato inferiore e travasare la fase etera nel primo imbuto separatore, lavando il secondo con 10 mL di etere. Lavare la soluzione etera per tre volte con 50 mL della soluzione di idrato di potassio all'1% trattenendo ancora nell'imbuto l'eventuale emulsione. Lavare per altre due volte con 50 mL di acqua distillata. Raccogliere la soluzione etera nel pallone a tappo smeriglio da 300 mL e lavare tre volte l'imbuto separatore con 5 mL di etere, aggiungendo i lavaggi nel pallone.

Evaporare l'estratto nel pallone su bagnomaria o con evaporatore rotante, completando l'essiccamento in stufa a 100 °C per 30 minuti.

**Precipitazione e determinazione:** Sciogliere il residuo in 5 mL di acetone. Filtrare sotto vuoto attraverso il filtro con setto poroso (porosità 2) raccogliendo nella beuta da vuoto da 100 mL; lavare tre volte con 5 mL di acetone, curando di non superare in totale 20 mL. Aggiungere la soluzione di digitonina (Soluzione di digitonina: sciogliere al momento dell'uso 40 mg di digitonina in 5 mL di alcool etilico all'80%; scaldare a 40-50 °C per facilitare la dissoluzione) agitando leggermente, quindi lasciar riposare per 30 min. Aggiungere 25 mL di acqua riscaldata a 60 °C e lasciare raffreddare a temperatura ambiente. Introdurre nel crogiolo a fondo poroso un dischetto di carta da filtro che ne copra esattamente il fondo (allo scopo di facilitare il distacco del precipitato alla fine dell'analisi). Essiccare in stufa a 100 °C, raffreddare e pesare. Filtrare il precipitato di digitonide attraverso il crogiolo, lavando parecchie volte la beuta con pochi mL di acetone e curando di recuperare tutto il precipitato aderente alle pareti. Lavare il precipitato tre volte con 5 mL di acetone e due volte con 5 mL di etere.

Essiccare in stufa a 100 °C per 45 minuti raffreddare e pesare.

La quantità di steroli su 100 g di sostanza secca è ottenuta mediante la formula:

$$\text{Steroli \% s. s.} = \frac{(P - P_0) \cdot 100}{C} \cdot \frac{100}{100 - U} \cdot 0,243$$

dove:

$P_0$  = peso del crogiolo vuoto;

$P$  = peso del crogiolo + precipitato;

$C$  = peso del campione;

$U$  = umidità percentuale del campione;

0,243 = orto steroli/digitonide.

Il numero di uova per kg di sfarinato viene ottenuto mediante la formula:

$$N = \frac{S - 0,050}{0,025}$$

dove:

$N$  = numero di uova;

$S$  = contenuto di steroli nella pasta, % s.s.;

0,050 = contenuto medio di steroli nello sfarinato, % s.s.;

0,025 = quantità media di steroli, % s.s., derivante dall'aggiunta di un uovo del peso di 50 g per chilogrammo di sfarinato.

La differenza tra i risultati di due determinazioni, effettuate simultaneamente o in rapida successione dallo stesso analista non deve superare il 3%.

**Per il calcolo del numero di uova:** degli steroli totali così ottenuti si considera lo 0,050% su sostanza secca proveniente dallo sfarinato e lo 0,025% proveniente da un uovo del peso medio di 50 g aggiunto a 1 kg di sfarinato.

Per legge la pasta all'uovo deve essere prodotta esclusivamente con semola e almeno quattro uova intere di gallina, prive di guscio, per un peso complessivo non inferiore a 200 g di uovo per ogni kg di semola. Le uova possono essere sostituite da una corrispondente quantità di ovoprodotto liquido fabbricato esclusivamente con uova intere di gallina, rispondente ai requisiti prescritti dal decreto legislativo 4 febbraio 1993, n.65.

Per legge l'estratto etero e il contenuto degli steroli non devono risultare inferiori rispettivamente a g 2,80 e a g 0,145, riferiti a 100 parti di sostanza secca.

### 3.1.12. Determinazione del grado di acidità libera

#### ■ Riferimento bibliografico

La metodica riportata è sostanzialmente quella descritta in Acquistucci *et al.* (2000) ed ha come base un metodo ufficiale dell'Istituto Superiore di Sanità (1960), cui sono state apportate integrazioni per meglio definire tutte le fasi analitiche.

Esistono diversi metodi per la determinazione dell'acidità, intendendo sia l'acidità grassa che quella libera. A livello nazionale il parametro dell'acidità libera è richiesto per legge per semole e paste e pertanto a questa ci si riferisce.

### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di frumento e paste alimentari.

### ■ Scopo

Valutare il tenore di acidità di semole e paste alimentari.

### ■ Definizione

Il metodo consente di determinare l'acidità libera dovuta essenzialmente ad acidi grassi liberi. L'acidità è riferita a sostanza secca.

### ■ Strumentazione necessaria

Macinino da laboratorio, setaccio, bilancia analitica, densimetro, bagno termostato (facoltativo).

### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 100 g.

Se sono da analizzare paste, 70-100 g di pasta vanno macinati finemente in un macinino da laboratorio fino a passare attraverso un setaccio con luce maglie da 0,3 mm; la macinazione va effettuata con gradualità per evitare eccessivo riscaldamento del materiale. Dopo la macinazione, se l'analisi non viene effettuata immediatamente conservare il campione a 4°C.

**Reattivi:** - Alcool etilico a 50°, ottenuto a partire da alcool etilico al 95% diluendo con acqua fino ad ottenere una soluzione alcolica a 50° (d = 0,9318±0,0002); per il controllo della gradazione alcolica viene utilizzato un densimetro tarato a 20 °C. - Soluzione di idrossido di sodio 0,02 N. - Soluzione alcolica al 3% di fenoltaleina (3 g di fenoltaleina in 100 mL di alcool etilico al 95%).

**Procedura:** 4 g di campione esattamente pesato si introducono in una beuta da 250 mL con tappo a smeriglio e si aggiungono 100 mL di alcool etilico; si lascia sotto agitazione per 3 h a 22±2 °C. Terminata la fase di estrazione, la soluzione alcolica viene filtrata e al termine vengono prelevati 50 mL trasferiti poi in una beuta con tappo smeriglio. Dopo aver aggiunto 2-3 gocce di soluzione alcolica di fenoltaleina si procede alla titolazione con idrossido di sodio 0,02 N; la titolazione continua fino alla comparsa di una colorazione rosata stabile per almeno 30 secondi. Parallelamente ai campioni viene condotto un test in bianco introducendo in una beuta 100 mL di soluzione alcolica e procedendo poi come per il campione.

L'acidità (A) è espressa gradi di acidità ed è uguale a:

$$A = \frac{[(V_1 - V_0) \cdot c] \cdot 2}{m} \cdot \frac{100}{100 - U} \cdot 100$$

dove:

V<sub>1</sub> = mL di idrossido di sodio richiesti per titolare il campione;

V<sub>0</sub> = mL di idrossido di sodio richiesti per titolare il bianco;

c = esatta concentrazione della soluzione di idrossido di sodio;

m = peso in grammi del campione;

U = % umidità del campione.

I risultati sono espressi su sostanza secca.

Determinazioni (almeno 3) eseguite dallo stesso operatore in rapida successione non dovrebbero differire più del 3% del loro valore medio.

### 3.1.13. Determinazione della fibra dietetica alimentare totale

#### ■ Riferimento bibliografico

G.U. n° 186-1994; ICC 156; UNI 10387.

#### ■ Campo di applicazione

Valutare la quantità di fibra alimentare totale contenuta negli sfarinati dei cereali o dei prodotti derivati.

#### ■ Scopo

Determinazione quantitativa del contenuto in fibra alimentare totale negli sfarinati dei cereali e dei prodotti derivati.

#### ■ Definizione

Viene definita fibra alimentare l'insieme delle sostanze commestibili di origine vegetale che di norma non sono idrolizzate dagli enzimi secreti dall'apparato digerente dell'uomo.

#### ■ Principio del metodo

Il metodo è basato su un procedimento gravimetrico-enzimatico. Il campione viene enzimaticamente digerito in presenza di α-amilasi, proteasi ed amiloglicosidasi, in modo da rimuovere le proteine e l'amido; dopo precipitazione con etanolo, il residuo viene filtrato ed essiccato. Il peso di questo residuo, detratte le ceneri e le proteine, costituisce la fibra alimentare totale.

#### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 1 g di campione.

**Preparazione dei crogioli prima dell'uso:** Collocare in ciascun crogiolo 0,5 g di celite 545, condizionare in muffola a 525 °C per una notte, raffreddare in essiccatore e pesare con precisione di 0,1 mg. Prima della filtrazione del campione, ridistribuire la celite nel crogiolo, usando alcuni millilitri di etanolo al 78% per formare un letto di filtrazione uniforme che permetta poi una facile rimozione del materiale.

**Estrazione:** Allestire un bianco, sul quale verranno eseguite tutte le operazioni per determinare il contributo dei reagenti al peso del residuo. Se il campione contiene una quota lipidica superiore al 10%, sgrassarlo prima dell'esecuzione del test. La quantità di grasso estratto dovrà essere considerata nell'espressione finale del risultato. Per ogni determinazione (il valore finale deve risultare dalla media di almeno due determinazioni) pesare in duplicato circa 1 g di campione (granulometria con particelle di dimensioni di 0,5 mm di Ø superiori al 50%) e introdurlo in un becker da 600 mL, unitamente a 50 mL di tampone fosfato 0,08M a pH 6,0 e a 100 microlitri di α-amilasi, miscelando accuratamente. Introdurre i bicchieri, coperti con un foglio di alluminio, nel bagnomaria bollente e tenerveli per 30 minuti, agitando delicatamente ogni 5 minuti.

Raffreddare fino a temperatura ambiente e portare il pH a 7,5 ± 0,2 con



NaOH 0,275 N; aggiungere 100 microlitri della soluzione di proteasi, miscelare accuratamente ed incubare per 30 minuti in bagnomaria a 60 °C con agitazione continua. Raffreddare fino a temperatura ambiente e portare il pH a 4,0-4,6 con HCl 0,325 N; aggiungere 150 microlitri di amiloglicosidasi, miscelare accuratamente, ed incubare per 30 minuti in bagnomaria a 60 °C con agitazione continua. Aggiungere 280 mL di etanolo al 95% preriscaldato a 60 °C e lasciar precipitare per un'ora a temperatura ambiente. Filtrare attraverso il crogiolo in beuta da vuoto o con un sistema automatico (Figura 14.1). Lavare il residuo tre volte con 20 mL di etanolo al 78%, due volte con 10 mL di etanolo al 95% e due volte con 10 mL di acetone. Essiccare i crogioli per una notte a 70 °C in stufa sotto vuoto o a 105 °C in stufa ad aria.

Raffreddare in essiccatore e pesare con precisione di 0,1 mg; sottrarre la tara del crogiolo con la celite e registrare il peso del residuo.

**Determinazione delle proteine:** Determinare su uno dei residui le proteine usando il metodo di Kjehldal, con fattore 5,70 per la conversione dell'azoto in proteina.

**Determinazione delle ceneri:** Incenerire il secondo residuo in muffola per 9 ore a 550±10 °C; raffreddare in essiccatore e pesare con precisione di 0,1 mg. Sottrarre la tara del crogiolo con la celite per determinare le ceneri.

Per eseguire la filtrazione è possibile anche utilizzare un sistema automatico (es. Fibertec) che permette di ottimizzare i tempi di analisi.

L'unità di filtrazione (Figura 14.24) consente di operare su sei campioni contemporaneamente ed include un sistema di deidratazione rapida. La filtrazione viene accelerata attraverso un sistema integrato, applicando una pressione inversa per facilitare la filtrazione ed eliminare l'intasamento dei filtri. Il tempo per la filtrazione varia in funzione del tipo di campione, normalmente è di 2-4 min per 100 mL di soluzione digerita.

Il contenuto in fibra totale è ottenuto dalla formula:

$$\%T. D. F. t. q. = \frac{R - (P - C - B)}{\text{mg campione}} \cdot 100$$



FIGURA 14.24 Sistema automatico Fibertec.

dove:

R = residuo finale del campione (in mg);

P = proteine del campione (in mg);

C = ceneri del campione (in mg);

B = valore medio del bianco (in mg) (media residuo sottratto le ceneri e le proteine).

$$\text{Bianco} = R_b - P_b - C_b$$

R<sub>b</sub> = residuo medio finale del bianco (in mg);

P<sub>b</sub> = proteine del bianco (in mg);

C<sub>b</sub> = ceneri del bianco (in mg).

La differenza fra i risultati di due determinazioni eseguite contemporaneamente o in rapida successione dallo stesso analista non deve essere superiore del:

- 15% per quantità di fibra alimentare fino al 4,5%;

- 10% per quantità di fibra alimentare superiori al 4,5%.

### 3.1.14. Metodo per la determinazione dei pigmenti carotenoidi

#### ■ Riferimento bibliografico

UNI EN ISO 11052; ICC 152.

#### ■ Campo di applicazione

Il metodo si applica a sfarinati di grano duro e a prodotti derivati.

#### ■ Scopo

Determinazione dei pigmenti gialli nelle cariossidi di grano duro.

#### ■ Definizione

Il contenuto in pigmenti gialli è il contenuto di carotenoidi estraibili dall'endosperma.

#### ■ Principio del metodo

Estrazione dei pigmenti con solvente e determinazione spettrofotometrica.

#### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 10g di campione.

10g di campione, macinato con macinino da laboratorio per ottenere una granulometria con particelle di dimensioni di 0,5mm di Ø superiori al 50%, sono posti in una beuta da 150 mL a cui sono aggiunti 50 mL di butanolo saturo d'acqua (6 parti di n-butanolo con 1-2 parti di acqua distillata). Agitare e omogeneizzare bene per circa 1 minuto facendo attenzione a non ammassare il campione e a recuperare la porzione di campione eventualmente rimasta sulle pareti della beuta. Lasciare a riposo per 15-18 ore, agitando delicatamente nella prima ora per 4-6 volte.

Utilizzare beute scure o altrimenti proteggerle dalla luce.

Al termine del tempo di riposo si filtra (con carta da filtro), si raccoglie il filtrato e si legge allo spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 435,8 nm, utilizzando il solo solvente come bianco.

È consigliabile utilizzare una curva di taratura con standard di  $\beta$ -carotene puro dosato appositamente in funzione delle proprie esigenze.

Va sottolineato che il  $\beta$  carotene (carotenoide liposolubile) è un componente minore rispetto ad altri pigmenti come le xantofille e la luteina, ma per convenzione si esprime in questo modo.

$$\text{Pigmenti } \beta \text{ carotene (ppm)} = 30,1 \cdot A$$

dove:

A = Assorbanza campione;

$30,1 = 5,0 / b \times K$ ;

5,0 = fattore di diluizione;

b = lunghezza della cella di lettura;

K = 0,16632 (mg/L); coefficiente di estinzione del  $\beta$ -carotene in butanolo saturo d'acqua alla lunghezza d'onda di 435,8 nm.

La differenza di due singole prove eseguite sullo stesso campione non deve essere superiore al 3%.

### 3.1.15. Metodo colorimetrico strumentale per la valutazione del colore o indice di giallo

#### ■ Riferimento bibliografico

Non esiste ancora un metodo ufficiale di riferimento; è in fase di definizione una procedura nell'ambito dell'ISO e del CEN, quest'ultimo ente nel merito ha già pubblicato delle linee guida (CEN standard n° 15465, General guidelines for instrumental methods measurement of semolina colour).

#### ■ Campo di applicazione

Prodotti di trasformazione dei cereali (semole, farine).

#### ■ Scopo

Valutare il colore di semole e farine.

#### ■ Definizioni

I metodi per esprimere il colore numericamente sono stati sviluppati da un'organizzazione internazionale che si occupa della luce e del colore, la "Commission Internationale de l'Eclairage" (CIE). I due modelli più conosciuti sono lo spazio colorimetrico Yxy, e lo spazio colorimetrico  $L^*a^*b^*$ . Lo spazio colorimetrico  $L^*a^*b^*$  (chiamato anche CIELAB) è attualmente uno dei più conosciuti spazi colorimetrici per la misurazione del colore di un oggetto ed è ampiamente usato in tutti i campi.

**Spazio colorimetrico:** il metodo per esprimere il colore di un oggetto o una fonte luminosa usando una certa notazione, ad esempio numerica.

**Illuminante Standard  $D_{65}$ :** simula la luce del giorno (inclusa la regione degli UV) con la relativa temperatura del colore di 6504 K; dovrebbe essere utilizzata per la misurazione di campioni che vengono illuminati dalla luce diurna, radiazioni UV incluse.

**Illuminante Standard C:** simula la luce del giorno media ma con differenze spettrali minime rispetto all'illuminante  $D_{65}$ .



FIGURA 14.25 Colorimetro.



FIGURA 14.26 Contenitore a tazza.

#### ■ Principio del metodo

Per mezzo di un colorimetro a riflessione (luce riflessa) dotato di una sorgente luminosa si effettuano delle misurazioni nel sistema colorimetrico (spazio  $L^*,a^*,b^*$ ), al fine di valutare le diverse varianti di colore.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 100g di campione.

La granulometria del campione è di fondamentale importanza in questo test. Con lo strumento appositamente settato viene scelto l'illuminante  $D_{65}$  ed eseguita una taratura con un materiale di riferimento con coordinate spaziali di colore definite.

Il campione, dopo accurato mescolamento, è posto in un apposito contenitore per prodotti granulari. Vengono eseguite 10 misurazioni in totale svuotando e riempiendo il contenitore con il campione rimescolato per 3 volte. Al termine delle letture lo strumento procede ad un'analisi statistica per la valutazione delle 10 misurazioni ottenute.

I valori ottenuti dall'analisi colorimetrica sono indicati dalle coordinate  $L^*a^*b^*$  con i rispettivi valori:

- L = bruno = (100-L);

- a = rosso;

- b = indice di giallo.

I dati possono essere stampati se lo strumento è dotato di apposito accessorio.

### 3.1.16. Metodo per la determinazione della purezza varietale mediante elettroforesi

#### ■ Riferimento bibliografico

UNI 10414; ICC 143; ISO 8981; Pogna *et al.*, 1990.

#### ■ Campo di applicazione

Cariossidi di grano duro e tenero.

#### ■ Scopo

La presente norma definisce un metodo per la determinazione della purezza varietale di grano duro e tenero mediante analisi elettroforetica delle proteine di riserva (gliadine).

#### ■ Principio del metodo

Estrazione delle gliadine dalla cariosside e successivo frazionamento dell'estratto. La separazione elettroforetica delle bande gliadiniche avviene su gel di poliacrilamide (PAGE), in funzione della loro carica elettrica e del loro peso molecolare.

#### ■ Strumentazione necessaria

Apparecchiatura elettroforetica.

#### ■ Procedura analitica

La tecnica elettroforetica può essere applicata alla singola cariosside o porzione di essa; per la purezza varietale è necessario analizzare almeno 50 singoli semi.

Pesare ogni cariosside e frammentarla schiacciandola con una pinza dentro una provetta. Aggiungere per l'equivalente di 1 g di cariosside 3,3 mL di alcool etilico al 70% v/v; agitare per un'ora. Aggiungere la soluzione di glicerolo-pironina G (pesare 60 g di glicerolo, aggiungere 50 mg di pironina G e portare a volume di 100 mL con acqua distillata) in quantità pari a quella di etanolo; agitare e centrifugare per 10 minuti a 8000 giri. L'estratto è pronto per essere caricato.

**Preparazione del gel (7,5% di acrilammide):** Acrilammide 6 g; Bis Acrilammide 0,3 g; Acido Ascorbico 80 g; Stock tampone 8 mL (lattato di sodio pH 3,00); Solfato ferroso 1% 120 µL; portare a 80 mL con acqua distillata e aggiungere 7 µL di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%. Stock tampone (lattato di sodio pH 3,00): NaOH 3,4 g + 25 mL acido lattico (aggiustare il pH con acido lattico), portare a 1 L con acqua distillata.

**Caricamento dei campioni:** Versare in ciascun pozzetto l'estratto gliadinico in quantità di 30 µL per il grano duro e di 15 µL per il grano tenero. Versare nei recipienti della cella elettroforetica il tampone lattato di sodio e attivare il criostato in modo che la temperatura del tampone si mantenga intorno a 10 ± 2 °C.

**Elettroforesi:** Collegare il polo positivo in alto e polo negativo in basso. Durante l'elettroforesi regolare l'alimentatore ad un valore costante di 450 V. Il tempo della corsa elettroforetica è circa 3-4 ore. A fine elettroforesi iniettare dell'acqua tra vetro e il gel allo scopo di favorirne il distacco.

#### Colorazione e decolorazione del gel

**Colorazione:** Sciogliere 25 mL di soluzione colorante (2 g di Blu Coomassie

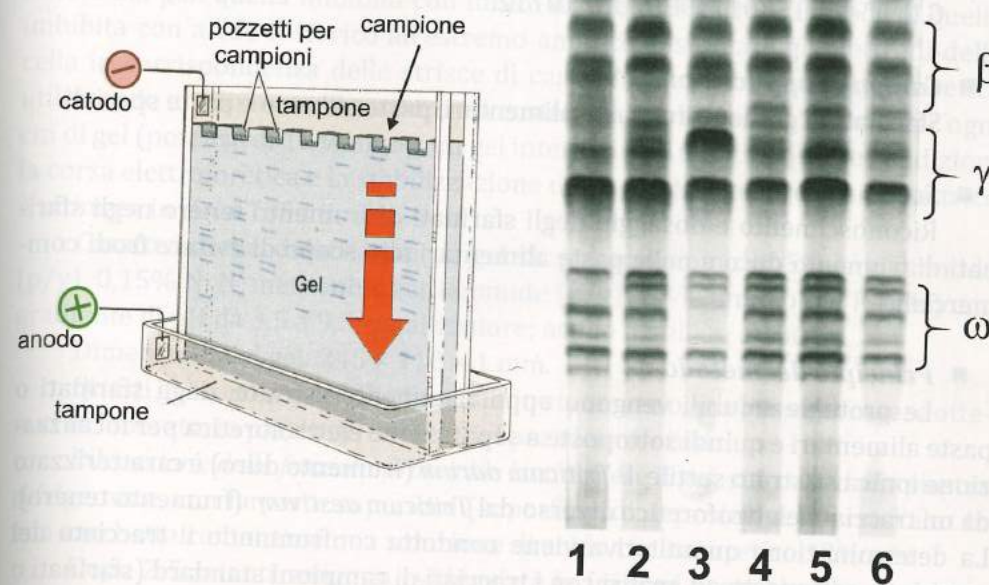


FIGURA 14.27 Cella elettroforetica verticale e relativo gel.

in 500 mL di alcool etilico 95%) in 250 mL di soluzione decolorante (acido tricloroacetico al 12%) e portare a 500 mL con acqua distillata. Successivamente versare la soluzione in contenitori e immergerci il gel qualche ora fino a completa colorazione di quest'ultimo.

**Decolorazione:** Lavare rapidamente il gel con acqua distillata e trasferirlo in una soluzione decolorante per una notte.

L'elettroforegramma va valutato preferibilmente con l'aiuto di un transilluminatore.

Il tracciato elettroforetico consente l'identificazione delle varietà, poiché il numero delle bande e la loro posizione sono caratteristici della varietà e non sono influenzati dalle condizioni colturali. Esso possiede tutti i requisiti di riproducibilità, specificità e polimorfismo per costituire "l'impronta digitale" della varietà.

La percentuale di purezza di una varietà viene espressa come:

$$\% \text{ purezza} = 100 - N$$

dove N = numero di cariossidi con formula elettroforetica diversa da quella standard in esame

Per l'identificazione della purezza varietale di varietà di grano duro e tenero occorre confrontare tutti i tracciati elettroforetici evidenziando quelli che presentano bande diverse ed inoltre è possibile verificare la corrispondenza varietale effettuando confronti con standard noti.

### 3.1.17. Determinazione della presenza di frumento tenero mediante focalizzazione ionica

#### ■ Riferimento bibliografico

G.U. n° 4 del 5/01/1980; UNI 10712.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano duro, paste alimentari, paste all'uovo e paste speciali.

#### ■ Scopo

Riconoscimento e dosaggio degli sfarinati di frumento tenero negli sfarinati di frumento duro e nelle paste alimentari allo scopo di evitare frodi commerciali.

#### ■ Principio del metodo

Le proteine solubili vengono opportunamente estratte, dagli sfarinati o paste alimentari e quindi sottoposte a separazione elettroforetica per focalizzazione ionica su strato sottile. Il *Triticum durum* (frumento duro) è caratterizzato da un tracciato elettroforetico diverso dal *Triticum aestivum* (frumento tenero). La determinazione quantitativa viene condotta confrontando il tracciato del campione sottoposto ad analisi con i traccianti di campioni standard (sfarinati o di paste). Questa procedura permette il riconoscimento della presenza di tenero in sfarinati o paste di frumento duro.

#### ■ Strumentazione necessaria

Bilancia analitica, centrifuga, sistema elettroforetico.

#### ■ Procedura analitica

**Estrazione delle proteine specifiche:** 5 g di prodotto finemente macinato sono posti in beuta da 100 mL, con 20 mL della soluzione di estrazione (200 mL di solfato di magnesio 0,13M più 73 mL di una soluzione di solfato ammonico 3M a pH 4,6; aggiustare il pH finale a 3,15 con acido cloridrico 2M) e vanno dispersi uniformemente. La miscela di prodotto macinato e soluzione salina deve avere un pH compreso fra 4,5 e 4,9.

Mantenere in estrazione per 30 minuti, agitando ogni tanto manualmente.

Centrifugare la miscela a 4500 x g per 30 minuti a temperatura ambiente.

Trasferire 10 mL del supernatante in un beker da 25 mL ed aggiungere, sotto agitazione 2,25 mL della soluzione di solfato ammonico 3M a pH 4,6.

Stabilizzare a temperatura ambiente per 15 minuti.

Centrifugare nuovamente la miscela a 4500 x g per 30 minuti a temperatura ambiente.

Eliminato il supernatante, il precipitato contenente il gruppo di proteine solubili specifiche, può essere sottoposto immediatamente a separazione elettroforetica.

**Separazione elettroforetica in focalizzazione ionica:** Disperdere 25 µL di precipitato ottenuto, in 20-40 µL di soluzione di urea 3 M. Porre sul gel di poliacrilammide i rettangolini di carta: ogni rettangolino di carta è utilizzato per la deposizione di un campione. Si possono effettuare contemporaneamente fino a

24 separazioni per un gel lungo 245 mm. Depositare circa 10 µL della soluzione del campione e farla assorbire sul rettangolino di carta già posizionato. Imbibire uniformemente due strisce di carta bibula 250×5×2 mm una con soluzione di idrato di sodio 1 M e l'altra con soluzione di acido fosforico 1 M. Porre le due strisce sul gel: quella imbibita con idrato di sodio all'estremo catodico, quella imbibita con acido fosforico all'estremo anodico. Sistemare gli elettrodi della cella in corrispondenza delle strisce di carta. Avviare la corsa elettroforetica utilizzando un alimentatore a potenza costante e applicando 0,75 watt per ogni cm di gel (potenza di 18 watt per un gel intero di 245 mm). In queste condizioni la corsa elettroforetica e la stabilizzazione delle proteine al loro pH isoelettrico è ultimata in circa 105 minuti.

Caratteristiche delle lastre di gel di poliacrilammide: 5% acrilammide (p/v), 0,15% N, N' metilenbis acrilammide (p/v); 2,4% ampholine R (v/v) con gradiente di pH da 3,5 a 9,5; catalizzatore; acqua distillata a 100 mL.

Dimensioni del gel: 245 × 110 × 1 mm.

Questi gel sono reperibili già pronti in commercio, ma possono essere ottenuti in laboratorio partendo dai reattivi per elettroforesi.

**Rilevazione delle frazioni proteiche:** Immergere il gel, staccato dalla piastra refrigerante, con la parte superiore (superficie di deposizione) verso l'alto in una vaschetta contenente una soluzione di acido tricloroacetico 12% p/v.

Dopo 2-5 minuti vengono evidenziate le frazioni proteiche che appaiono bianche nel gel rimasto trasparente ed incolore.

È preferibile, per una più lunga conservazione dei risultati, fotografare il gel con luce trasversa e su fondo nero.

Per la valutazione dei risultati è indispensabile condurre, parallelamente ai campioni incogniti e sullo stesso supporto determinazioni su campioni standard di riferimento.

Utilizzare, nel caso di analisi di sfarinati, miscele di sfarinati a contenuto noto e crescente di frumento tenero 0, 2, 7 e 15%.

Utilizzare, nel caso di analisi di paste alimentari campioni di pasta a contenuto noto e crescente di frumento tenero: 0, 2, 7 e 15%.

La parte del tracciato che interessa per l'interpretazione qualitativa e quantitativa dei risultati è quella compresa fra la zona di deposizione (rettangolini di carta) e la frazione 1 caratteristica del frumento duro. In questa zona compaiono le frazioni A e B caratteristiche del frumento tenero, assenti nel tracciato relativo ai prodotti di solo frumento duro.

La comparsa nel tracciato di tali bande è pertanto indice di presenza di frumento tenero: per percentuali basse in frumento tenero compare solo la banda B, per percentuali maggiori anche la banda A. Esiste anche una terza proteina specifica del frumento tenero C ed a pH isoelettrico notevolmente più acido.

La valutazione quantitativa dei risultati viene condotta confrontando il tracciato del campione incognito con quelli dei campioni standard evidenziati sullo stesso gel.

Il criterio di confronto è quello di raffrontare l'intensità delle bande A e B specifiche del frumento tenero e della banda 1 specifica del frumento duro con l'intensità delle medesime bande presenti nei traccianti dei campioni standard.

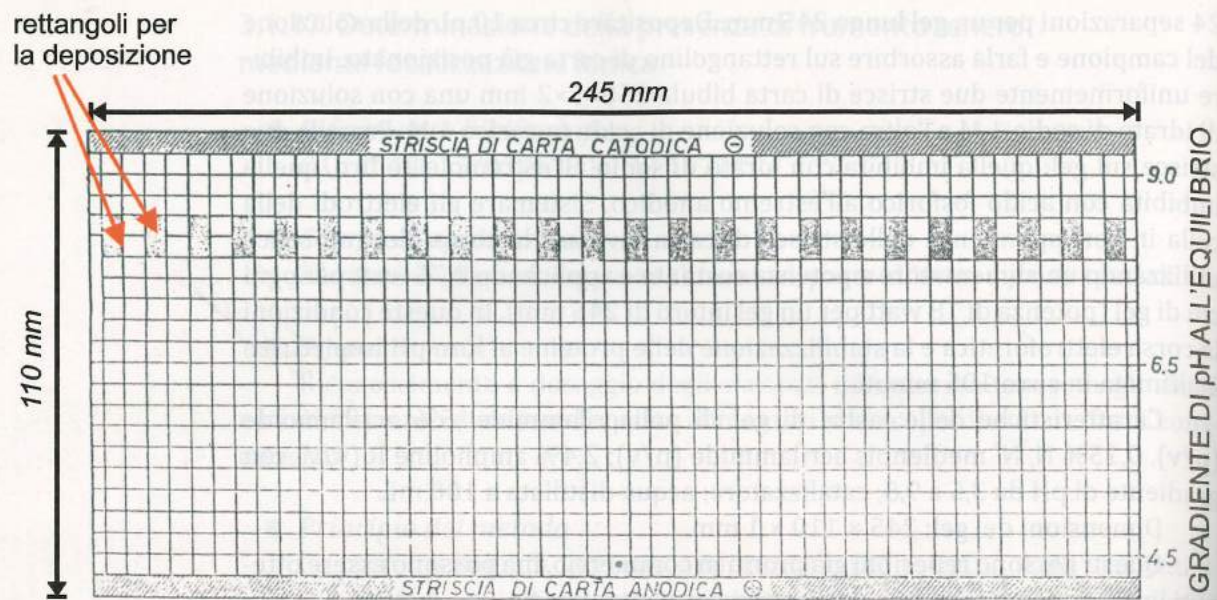


FIGURA 14.28 Schema di sistemazione sulla piastra di poliacrilammide dei rettangoli di deposizione e delle strisce agli elettrodi.

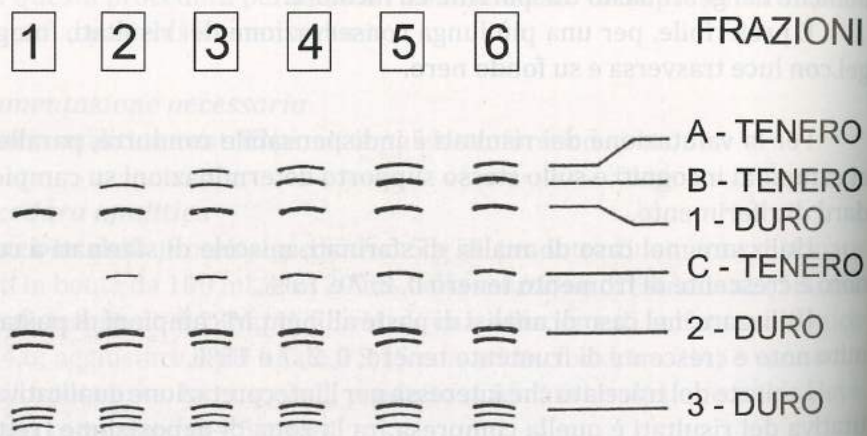


FIGURA 14.29 Traccianti elettroforetici di miscela di riferimento di sfarinati di grano duro e grano tenero.

#### Preparazione degli standard:

Paste alimentari a contenuto noto di frumento tenero (0, 2, 7, 15%).

Sfarinati a contenuto noto di frumento tenero (0, 2, 7, 15%), preparati nel modo seguente:

- 0%: g 5,00 di sfarinati di frumento duro;
- 2%: g 4,90 di sfarinati di frumento duro + g 0,10 di frumento tenero;
- 7%: g 4,65 di sfarinati di frumento duro + g 0,35 di frumento tenero;
- 15%: g 4,25 di sfarinati di frumento duro + g 0,75 di frumento tenero.

Il metodo descritto è ormai sempre più sostituito da metodiche basate su principi diversi, quali ad esempio la determinazione quali-quantitativa del DNA e l'utilizzazione di PCR.

## 3.2. Metodi reologici

Con questo termine si intendono tutta una serie di analisi eseguite simulando, con apposita strumentazione/metodica il comportamento degli sfarinati durante i processi di lavorazione, dovuto all'azione dei costituenti principali (proteine, amido) e delle loro interazioni.

### 3.2.1. Determinazione del contenuto in glutine

La determinazione del contenuto in glutine di sfarinati di frumento può essere effettuata mediante metodo manuale (G.U. n° 186 del 10/8/1994) o tramite sistemi automatici ormai largamente diffusi.

Viene di seguito riportata la metodica con sistema automatico.

#### ■ Riferimento bibliografico

ICC n° 137/1; UNI EN ISO 21415 parti 1, 2, 3, 4.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero (farine) e di grano duro (semole).

#### ■ Scopo

Determinare la quantità di glutine in sfarinati di frumento sia tenero che duro.

#### ■ Definizione

Con il termine di glutine si definisce una sostanza plastico-elastica costituita da proteine non solubili in acqua (essenzialmente gliadine e glutenine).

#### ■ Principio del metodo

Il metodo per determinare la quantità di glutine prevede la preparazione di un impasto ed il suo lavaggio con una soluzione tampone, nonché la separazione del glutine stesso dopo eliminazione dell'amido.

#### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 10 g circa.

Composizione soluzione tampone (pH 5,95): 200 g NaCl + 2,46 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  + 7,45 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  vengono disciolti in 10 litri di acqua.

#### Preparazione del campione

Sfarinati di grano tenero: L'analisi può essere effettuata direttamente su farine o nel caso di campione in granella deve essere preliminarmente effettuata la macinazione; in tal caso, 300 g di campione sono macinati con un molino da laboratorio equipaggiato con un vaglio 0,8 mm di diametro e determinata l'umidità.

Inizio della prova: 10 g sono pesati accuratamente in duplicato e posti nelle camere di lavaggio con il setaccio di 88 micron.

Si aggiungono 4,8 mL di soluzione tampone (vedi composizione) e una volta inserite le camere di lavaggio nell'apposita sede si preme il tasto "start" e si avvia l'analisi.

Il tempo di analisi è di cinque minuti durante i quali il campione viene lavato per mezzo di una soluzione tampone.



**FIGURA 14.30** Sistema di estrazione e piastra riscaldante.

Allo scadere del tempo il glutine che si è formato viene pesato e tramite la seguente formula viene calcolata la quantità in % di glutine umido tal quale:

$$\% \text{ di glutine umido t. q.} = \frac{\text{g estratti} \cdot 100}{\text{g iniziali}}$$

*Sfarinati di grano duro:* L'analisi prevede (previa accensione del tasto MEAL WASH) un primo lavaggio di due minuti con la prima camera impastatrice (setaccio 88 micron) e un secondo lavaggio della durata di tre minuti per mezzo di una seconda camera avente un setaccio a maglie più grandi 840 micron (Figura 14.31); la procedura è sostanzialmente analoga a quella sopra descritta.

*Glutine secco (quantità di glutine secco):* Il campione di glutine, estratto secondo la procedura suindicata, viene opportunamente asciugato dell'acqua in eccesso e poi viene collocato nella piastra riscaldante (Figura 14.32) per circa quattro minuti a 150 °C.

Allo scadere del tempo il glutine secco viene pesato e viene calcolata la % di glutine su tal quale con la seguente formula:

$$\text{g estratti} \times 100 / \text{g iniziali}$$



**FIGURA 14.31** Camera di lavaggio.



**FIGURA 14.32** Glutine essiccato su piastra riscaldante.

È preferibile che i risultati siano riferiti alla sostanza secca, in tal caso deve essere fatta la correzione per l'umidità iniziale dello sfarinato.

La differenza tra i valori di due determinazioni effettuate simultaneamente o in rapida successione dallo stesso operatore non deve superare 0,5.

### 3.2.2. Determinazione dell'indice di glutine (gluten index)

#### ■ Riferimento bibliografico

Gluten index ICC n° 158; AACC n° 38-12.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero (farine) e di grano duro (semole).

#### ■ Scopo

Valutare la qualità del glutine di sfarinati di frumento sia tenero che duro.

#### ■ Principio del metodo

Il glutine umido, una volta estratto secondo la metodica sopra riportata, è centrifugato per forzarne il passaggio attraverso un'apposita griglia e in condizioni predefinite. Viene misurata la quantità di glutine che rimane sopra la griglia rispetto alla quantità iniziale.

#### ■ Procedura analitica

*Quantità richiesta:* 10 g circa.

Sul campione di glutine umido ottenuto secondo la procedura sopra descritta può essere eseguita la valutazione della qualità: una volta che il campione di glutine umido è stato estratto (in duplicato) e pesato; senza alcuna manipolazione viene introdotto nella centrifuga e centrifugato per un minuto a 6000 rpm.

Al termine, viene tolto l'alloggio dalla centrifuga e viene pesata prima la parte di glutine che è passata attraverso le maglie del setaccio e successivamente la parte rimasta.



**FIGURA 14.33** Sistema di estrazione e centrifuga.

Il valore del gluten index viene calcolato con la seguente formula:

$$\text{gluten index} = \frac{\text{g rimasti}}{\text{g totali}} \cdot 100$$

I dati vengono approssimati a numeri interi.

Il valore dell'indice di glutine indica la qualità del glutine per mezzo di una scala di valori che va da zero (qualità scadente) fino a 100 (qualità eccellente); essa viene espressa con un numero intero. Se il glutine è molto debole, può passare totalmente attraverso la griglia, nel qual caso l'indice di glutine è prossimo a zero; viceversa, se il glutine è di ottima qualità e non vi è passaggio attraverso la griglia, l'indice di glutine è prossimo a 100.

### 3.2.3. Determinazione dell'indice di sedimentazione

Questo metodo valuta in modo indiretto la qualità del glutine, uno dei fattori che determinano la qualità del grano, in relazione alla capacità panificatoria/pastificatoria della farina (semola) che da esso deriva. Esistono due varianti: il test di Zeleny, utilizzato esclusivamente per il frumento tenero, e il test con SDS (sodio-dodecilsolfato), applicabile con qualche differenza sia al frumento tenero che duro.

#### ■ Riferimento bibliografico

Zeleny: ISO 5529; SDS: ICC n° 151, AACC n° 56-70.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di frumento tenero e/o duro.

#### ■ Scopo

Valutare le caratteristiche reologiche di uno sfarinato.

#### ■ Principio del metodo

Il metodo sfrutta la proprietà delle proteine di riserva di uno sfarinato di frumento di rigonfiarsi in un mezzo acido. In specifiche condizioni, da una sospensione di un campione di farina in una soluzione di acido lattico e propanolo (Zeleny) o acido lattico e sodio dodecil solfato (SDS) si ottiene un sedimento; maggiore è il volume del sedimento, migliore è la qualità reologica della farina.

#### ■ Procedura analitica

##### A. Test Zeleny

Reagenti usati:

- Soluzione di acido lattico-propanolo: 180 mL di acido lattico diluito con 200 mL di propan-2-olo e portato a 1000 mL con acqua distillata. L'acido lattico diluito si prepara a partire da una soluzione di acido lattico concentrata (250 mL di ac. lattico puro all'85% circa diluiti a 1000 mL con acqua distillata), precedentemente titolata con idrossido di sodio per verificarne la concentrazione che deve essere tra 2,7 e 2,8 mol/l (per 10 mL di ac. lattico sono necessari 28 mL di idrossido di sodio 1 M).

- Soluzione di blu di bromofenolo: discogliere 4 mg di blu di bromofenolo in acqua distillata portando a 1000 mL.

Pesare circa 3,2 g di farina e porla in un cilindro graduato da 100 mL con tappo; aggiungere mediante pipetta o dispensatore automatico 50 mL di soluzione di blu di bromofenolo. Chiudere il cilindro e agitarlo, mantenendolo in posizione orizzontale, 12 volte nella stessa direzione per circa 5 secondi. Porre il cilindro in un apposito agitatore; dopo 5 min rimuovere il cilindro e aggiungere 25 mL con la pipetta o dispensatore automatico di una soluzione di acido lattico/propanolo. Porre nuovamente il cilindro nell'agitatore per 5 minuti. Rimuovere il cilindro, porlo in posizione verticale e lasciarlo per 5 minuti quindi leggere il volume del sedimento. Il numero che indica il volume del sedimento rappresenta l'indice di sedimentazione.

#### B. Test SDS

Reagenti usati: Soluzione SDS-acido lattico: 20 o 30\* g di sodio dodecil solfato in 1000 mL di acqua distillata + 20 mL di soluzione diluita di acido lattico; la soluzione diluita di acido lattico è ottenuta diluendo acido lattico puro all'88-90% 1:8 con acqua distillata).

Pesare 6 g di campione (macinato in modo da ottenere una granulometria con particelle di dimensioni di 0,5 mm di Ø superiori al 50%) e porli in un cilindro graduato da 100 mL con tappo; aggiungere 50 mL di acqua distillata con dispensatore automatico e disperdere rapidamente lo sfarinato agitando a mano per 15 secondi (punto zero dello step numero 1). L'agitazione deve avvenire capovolgendo il cilindro e permettendo a tutto il sedimento di staccarsi dal fondo.

L'agitazione viene ripetuta nuovamente per 15 secondi a 2 minuti e a 4 minuti dal punto zero.

Immediatamente dopo l'ultima agitazione (al 4° minuto) si aggiungono 50 mL di soluzione SDS-acido lattico; miscelare invertendo il cilindro per quattro volte (punto zero dello step numero 2).

Ripetere l'agitazione, sempre con quattro capovolgimenti, a 2 minuti, a 4 minuti e a 6 minuti dal punto zero.

Dopo l'ultima agitazione lasciare a riposo il campione per 20 minuti e successivamente effettuare la lettura del sedimento sul fondo del cilindro graduato.

Il numero che indica il volume del sedimento, leggendo sulla scala del cilindro graduato, rappresenta l'indice di sedimentazione.

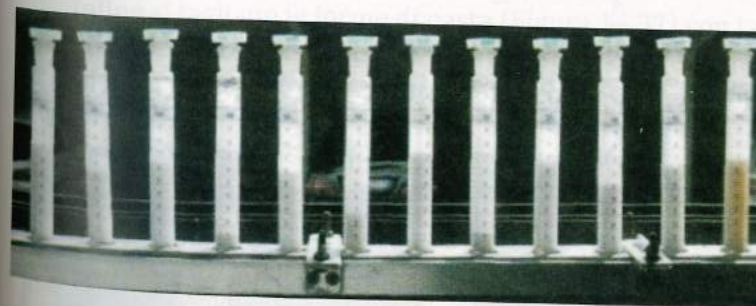


FIGURA 14.34 Sequenza di cilindri durante un test SDS.

\* La concentrazione di SDS in acido lattico viene utilizzata al 2% o al 3%, quest'ultima viene soprattutto applicata al frumento duro per una migliore differenziazione.

TABELLA 14.5

Tempi di agitazione dei cilindri durante il test	
1° STEP	TEMPO
Agitaz. per 15 sec	0 min
Agitaz. per 15 sec	2 min
Agitaz. per 15 sec	4 min

### 3.2.4. Determinazione delle caratteristiche reologiche tramite alveografo

#### ■ Riferimento bibliografico

Frumento tenero: UNI EN ISO 27971, AACC 5430; frumento duro: UNI 10453.

#### ■ Scopo

Valutare le caratteristiche reologiche degli sfarinati di frumento sia tenero che duro mediante l'alveografo di Chopin.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero (farine) e di grano duro (semole).

#### ■ Principio del metodo

Quantità richiesta: 250 g di campione.

L'alveografo (Chopin) è uno strumento che permette di valutare forza ed estensibilità dell'impasto, misurando la pressione d'aria necessaria all'estensione biassiale di un campione sottoposto a rigonfiamento per mezzo di un gas (aria).

L'alveografo è uno strumento nato fondamentalmente per l'analisi e la classificazione degli sfarinati di grano tenero, ma può essere applicato agli sfarinati di grano duro applicando piccole modifiche (metodica UNI 10453).

#### ■ Procedura analitica ad idratazione costante (sfarinati di grano tenero)

Taratura dello strumento: Questa operazione è indispensabile per la buona conduzione della prova e dovrà essere effettuata all'inizio di ogni serie di prove.



FIGURA 14.35 Alveografo di Chopin.

*Preparazione del campione:* Sul campione previa setacciatura è determinata l'umidità. Sono pesati 250 g e posti nell'impastatrice; la buretta in dotazione allo strumento viene riempita con una soluzione salina al 2,5% di NaCl, fino al valore corrispondente alla percentuale di umidità della farina determinata precedentemente.

La procedura consta di tre fasi: impastamento, estrusione e test alveografico vero e proprio.

*Impastamento:* Prima di iniziare la prova, la temperatura dell'apparecchio è stabilizzata controllando che non sia al di sopra dei 25 °C. Dopo aver versato la farina nell'impastatrice si esegue una omogeneizzazione del campione per circa 1 minuto.

Il test ha inizio avviando il cronometro e aggiungendo la soluzione salina con la buretta in circa 20 secondi.

Dopo 1 minuto di impastamento si ferma il motore, si toglie il coperchio e si effettua una pulizia delle pareti e del coperchio con la spatola, affinché tutta la farina venga impastata.

Terminata l'operazione si riavvia il motore e si continua l'impastamento fino al termine dell'8° minuto, quindi si lascia riposare l'impasto per 18 min e infine si riprende ad impastare per altri 4 minuti fino al termine del 27° minuto.

Per gli sfarinati di grano duro: l'impastamento continua per altri 4 minuti prima del riposo.

*Estrusione, formatura e riposo dei campioni dell'impasto:* È necessario prima dell'estrazione (quindi durante l'impastamento) oliare leggermente tutti gli attrezzi a disposizione.

Dopo aver fermato il motore alla fine dell'8° minuto, si alza lo sportellino del foro di estrusione dell'impastatrice per permettere l'uscita del nastro di pasta e si inverte il senso di rotazione dell'impastatrice iniziando l'estrusione.

Quando il nastro di pasta arriva alla linea indicata sulla piastra di estrazione, si taglia rapidamente e si fa scivolare sulla lastra di vetro oleata. Il primo pezzo di pasta in uscita viene tagliato e scartato (circa 2 cm).

Si sistema di nuovo la piastra di estrazione, procedendo con l'estrazione successiva di altri quattro pezzi d'impasto.

Terminata l'operazione, i cinque provini d'impasto vengono rullati fino ad ottenere uno spessore costante, facendo scorrere sulle guide della tavola di laminazione (cioè la base della lastra di vetro) il rullo per dodici volte (sei andata/ritorno, Figura 14.36).

Infine si tagliano le forme di pasta (Figura 14.37) con la fustella e si trasferiscono sulle placche della camera di riposo in cui vengono poste a 25 °C per 20 minuti in base all'ordine di estrazione, collocando il primo campione in alto (Figura 14.38).

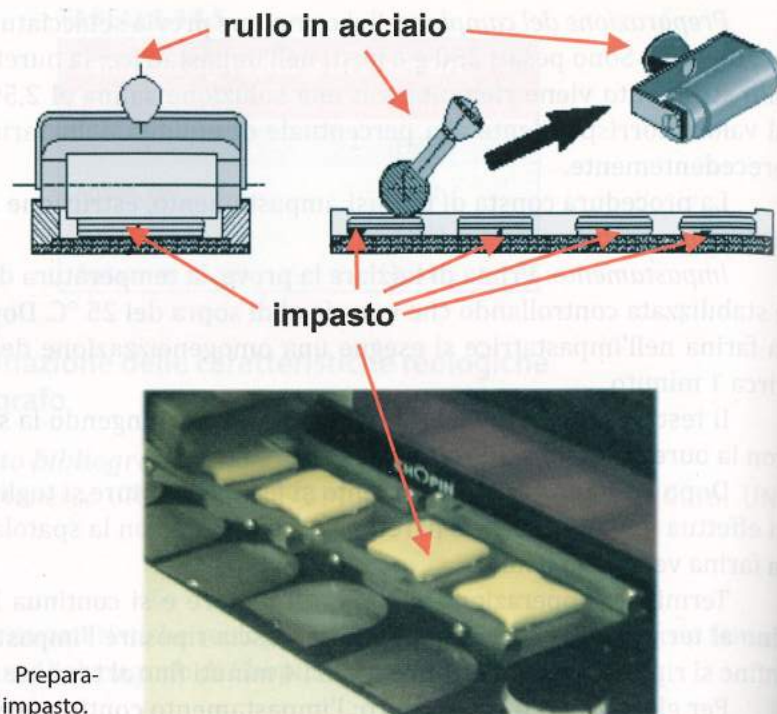
Durante il riposo si rimuove dall'impastatrice l'impasto residuo e si procede alla pulizia smontando le varie parti (pala, coperchio, sportellino etc.).

Per gli sfarinati di grano duro: l'estrusione inizia al termine del 27° minuto, mentre il tempo di riposo rimane invariato a 20 minuti.

*Misura alveografica:* Trascorsi 28 minuti dall'inizio dell'impastamento, inizia la misura alveografica.

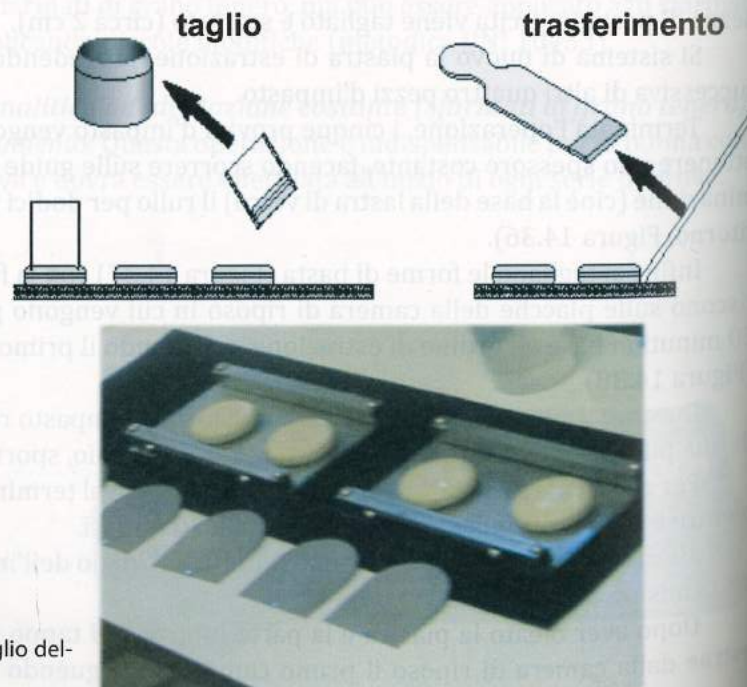
Dopo aver oleato la piastra e la parte interne del tappo dell'alveografo, si estrae dalla camera di riposo il primo campione (seguendo l'ordine di uscita



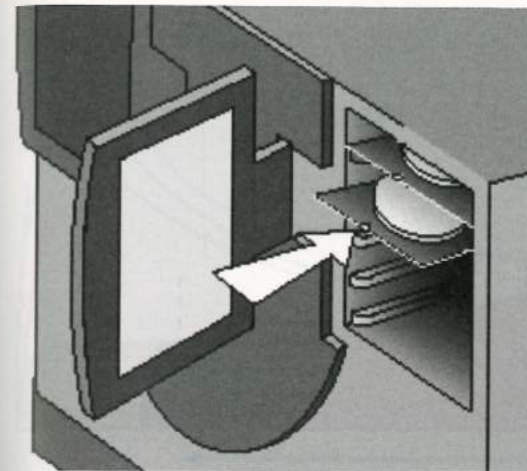


**FIGURA 14.36** Preparazione dei provini di impasto.

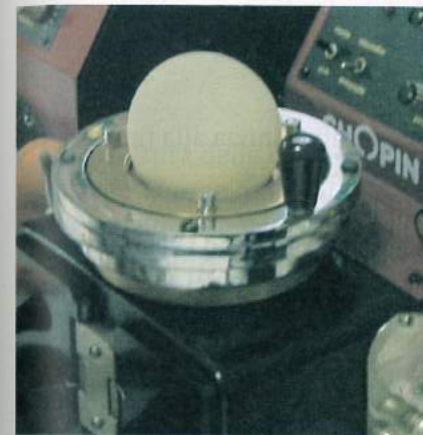
dell'impastatrice) e lo si fa scivolare al centro della piastra alveografica, dove viene sottoposto alla crescente pressione dell'aria immessa dal basso. Mentre le dimensioni della bolla (Figura 14.39) che si crea aumentano continuamente in funzione della resistenza e della qualità dell'impasto, la pressione del gas, dopo un incremento iniziale, diminuisce a causa della formazione di piccoli pori nell'impasto; infine la pressione scende a zero quando la bolla si rompe.



**FIGURA 14.37** Taglio delle forme di pasta.



**FIGURA 14.38** Camera di riposo delle forme di pasta.



**FIGURA 14.39** Sviluppo della bolla.

**TABELLA 14.6**

Tempi e operazioni di lavoro per sfarinati di grano tenero e duro			
SFARINATI DI GRANO TENERO		SFARINATI DI GRANO DURO	
1° minuto	Aggiunta acqua e recupero	1° minuto	Aggiunta acqua e recupero
8° minuto	Estrusione	5° minuto	Stop impastamento
28° minuto	Lettura	23° minuto	Ripresa impastamento
		27° minuto	Estrusione
		47° minuto	Lettura

Si procede successivamente alla prova degli altri quattro provini, sempre lubrificando di nuovo la placchetta inferiore e il tappo. Si ottengono così cinque curve aventi la stessa origine.

Viene registrato il punto di rottura della bolla che costituisce la fine della prova.

Se si verifica una rottura anomala della bolla, non si tiene conto della curva corrispondente.

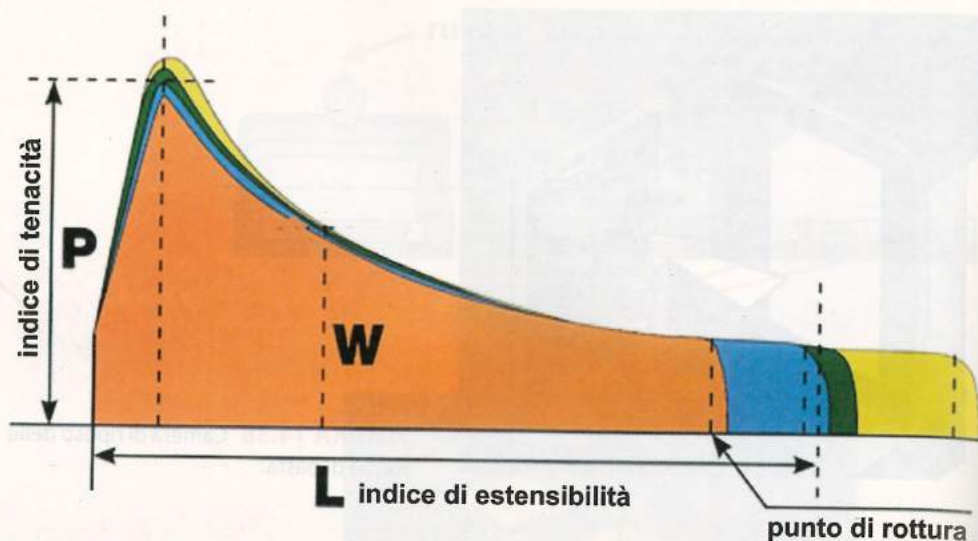


FIGURA 14.40 Tracciato alveografico.

Per gli sfarinati di grano duro: la lettura alveografica inizia alla fine del 47° minuto.

I parametri che si ricavano dal grafico di Figura 14.40 sono i seguenti:

P = indice della *tenacità* dell'impasto e si esprime in mmH<sub>2</sub>O. Con valori elevati di P l'impasto è tenace ed è richiesta più acqua per arrivare ad una consistenza ottimale.

L = indice di *estensibilità* dell'impasto e la sua capacità di svilupparsi. Tale parametro è espresso in mm.

P/L = evidenzia una situazione di equilibrio o squilibrio tra *tenacità ed estensibilità* di un impasto. Un valore di P/L basso (< 0,30) è indice di un impasto molle, estensibile e probabilmente coloso; un valore di P/L elevato (> 0,90) indica impasti difficili da lavorare perché molto tenaci.

W = indice di *forza* della farina, espressione utilizzata per indicare l'area globale della curva. Tale parametro viene espresso in Joules × 10<sup>-4</sup>. La

TABELLA 14.7

Classificazione delle farine di grano tenero	
FRUMENTO DI FORZA (FF)	W ≥ 300 P/L 1 max
FRUMENTO PANIFICABILE SUPERIORE (FPS)	W ≥ 220 P/L 0,6 max
FRUMENTO PANIFICABILE (FP)	W ≥ 160 P/L 0,6 max
FRUMENTO BISCOTTIERO (FB)	W ≥ 115 P/L 0,5 max

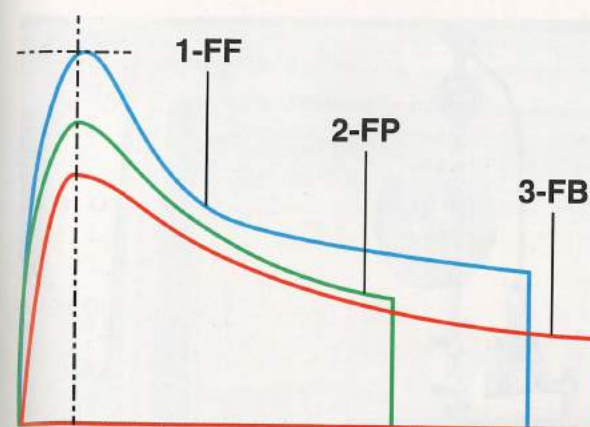


FIGURA 14.41 Profili alveografici di farine di grano tenero. FF: frumento di forza; FP: frumento panificabile; FB: frumento biscottiero.

differenza tra i valori di due prove effettuate in rapida successione dallo stesso operatore non deve superare il 5% per P e W; il 6% per L e il 4% per G.

La lettura delle curve e la relativa integrazione veniva nel passato effettuata visivamente, ma ormai è ottenuta tramite apposito dispositivo (Alveolink), direttamente collegato all'alveografo.

I parametri alveografici vengono presi in considerazione dagli operatori per classificare le farine in funzione della destinazione d'uso.

Il test alveografico può essere condotto con idratazione adattata tramite il consistografo (integrato all'alveografo); tale test è utile per misurare l'assorbimento ottimale delle farine ed è particolarmente utile per farine molto forti. Riferimento bibliografico: ICC 171, AACC 54-50.

### 3.2.5. Determinazione delle caratteristiche reologiche tramite farinografo

#### ■ Riferimento bibliografico

ISO 5530-1; ICC 115/1; AACC 54-21.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero (farine) e di grano duro (semole).

#### ■ Scopo

Il farinografo permette di studiare l'evoluzione delle caratteristiche di un impasto nel tempo, tramite la registrazione della resistenza che l'impasto oppone ad una sollecitazione meccanica costante, in condizioni operative predefinite; fornisce inoltre la quantità d'acqua necessaria per raggiungere una consistenza ottimale di 500 Unità Brabender (U.B.).

#### ■ Principio del metodo

La qualità di una farina è misurata dalla resistenza che l'impasto presenta durante l'impastamento.

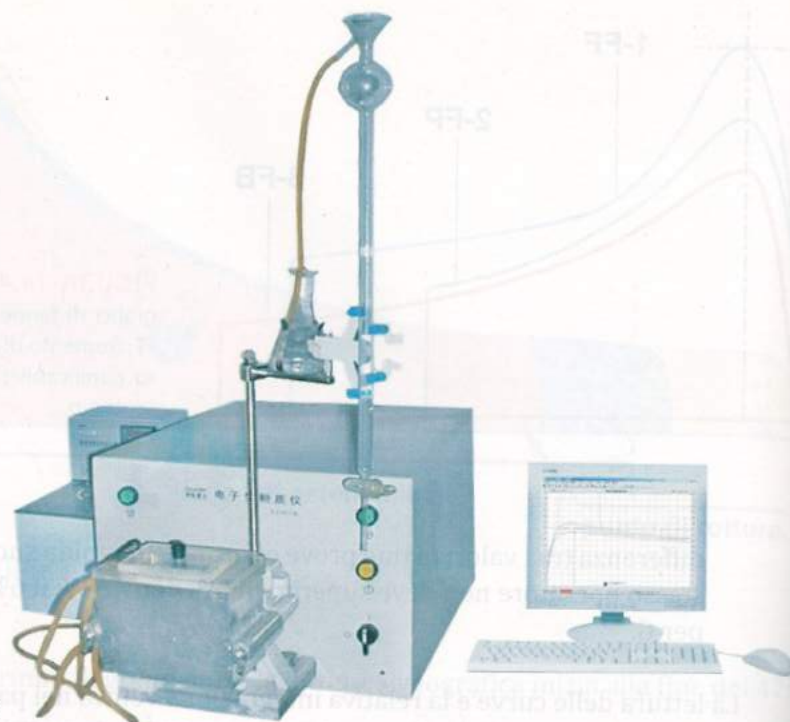


FIGURA 14.42 Farinografo Brabender.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 300 g di campione per impastatrici grandi e 50 g di campione per impastatrici piccole.

**Ricerca della linea di base:** Questa operazione (viene eseguita facendo ruotare le pale dell'impastatrice vuota) è indispensabile per la buona conduzione della prova e dovrà essere effettuata all'inizio di ogni serie di prove in modo da non falsare la registrazione sul diagramma.

Prima di iniziare la prova, la temperatura dell'apparecchio deve essere stabilizzata non al di sopra dei 30 °C.

**Preparazione del campione:** Si pesano 300 g di farina /semola (o 50 g per le impastatrici piccole); si fa partire la prova iniziando ad aggiungere l'acqua contenuta nella buretta sulla base della percentuale dell'assorbimento che la farina presumibilmente richiede cioè in quantità sufficiente affinché l'impasto, che si formerà, abbia una consistenza corrispondente a 500 U.B. All'inizio dell'impastamento si può recuperare l'impasto attaccato alle pareti dell'impastatrice tramite i fori che sono sul coperchio. La visualizzazione dei dati avviene su un grafico dove in ascissa viene espresso il tempo in minuti, mentre in ordinata la consistenza dell'impasto in U.B. La scala della consistenza va da 0 a 1000 e presenta una linea centrale corrispondente alla consistenza di 500 U.B.

**Impastamento e determinazione del valore di assorbimento:** Nella fase di impastamento viene determinato il reale valore di assorbimento di acqua che la farina richiede, misurando che al tempo di sviluppo massimo dell'impasto la metà della banda corrisponda alla linea rossa delle 500 Unità Brabender (o U.F. Unità Farinografiche), con una tolleranza di  $\pm 20$  U.B. A questo punto, se la consistenza dell'impasto risulta ottimale si prosegue con l'analisi fino al termi-



FIGURA 14.43 Camera di impastamento del farinografo.

ne dei 20 minuti, altrimenti si esegue una nuova prova correggendo la quantità di acqua da aggiungere. Ad esempio, se la banda del campione si trova al di sopra della linea delle 500 U.B., significa che l'impasto è troppo consistente e va aggiunta più acqua rispetto alla prova precedente; viceversa se la banda del campione si trova al di sotto della linea delle 500 U.B.

Nel farinogramma vengono evidenziati i seguenti parametri che caratterizzano la qualità delle farine/semole:

- **Assorbimento d'acqua percentuale (A):** ovvero il contenuto d'acqua da aggiungere alla farina per raggiungere la consistenza ottimale di 500 U.B.
- **Sviluppo dell'impasto in minuti (B):** tempo necessario affinché l'impasto raggiunga il picco massimo di consistenza. Farine con alti valori di stabilità danno impasti che possono sopportare lunghi impastamenti e lunghe fermentazioni.
- **Stabilità in minuti (C):** intervallo di tempo durante il quale l'impasto si mantiene alla massima consistenza.
- **Stabilità Brabender in minuti:** intervallo di tempo durante il quale l'impasto si mantiene sopra la consistenza di 500 U.B.
- **Elasticità in mm:** larghezza della banda rilevata nel punto in cui la banda stessa inizia a scendere.

TABELLA 14.8

Attitudine panificatoria delle farine		
ATTITUDINE	STABILITÀ (min)	RAMMOLLIMENTO U.B.
Ottima	>10	Tra 0 e 30
Buona	>7	Tra 30 e 50
Discreta	>5	Tra 50 e 70
Mediocre	>3	Tra 70 e 130
Scadente	<2	> 130

- **Grado di rammollimento in U.B. (E):** indica la diminuzione di consistenza dell'impasto rispetto alla consistenza standard di 500 U.B. dopo dieci e venti minuti dall'inizio della prova.
- **Indice valorimetrico:** si rileva utilizzando l'abaco valorimetrico (dopo dodici minuti dal punto in cui la banda inizia a scendere) e serve a dare un "punteggio" alla farina; questo indice racchiude: tempo di sviluppo, stabilità e grado di rammollimento dell'impasto, pertanto viene usato frequentemente.

I parametri farinografici vengono presi in considerazione dagli operatori soprattutto per valutare l'attitudine panificatoria delle farine e deciderne quindi la destinazione d'uso.

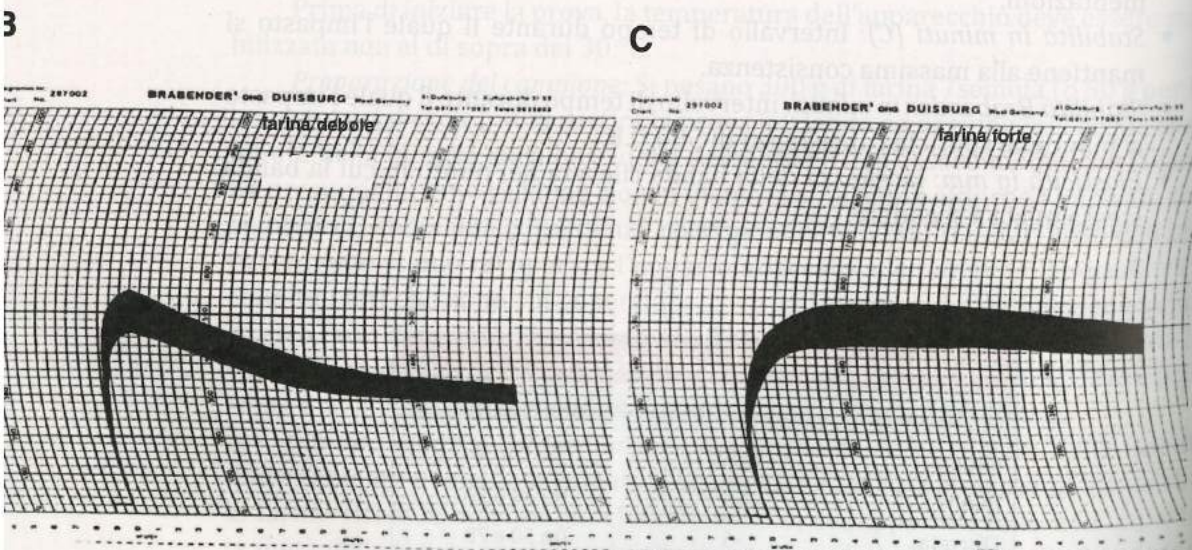
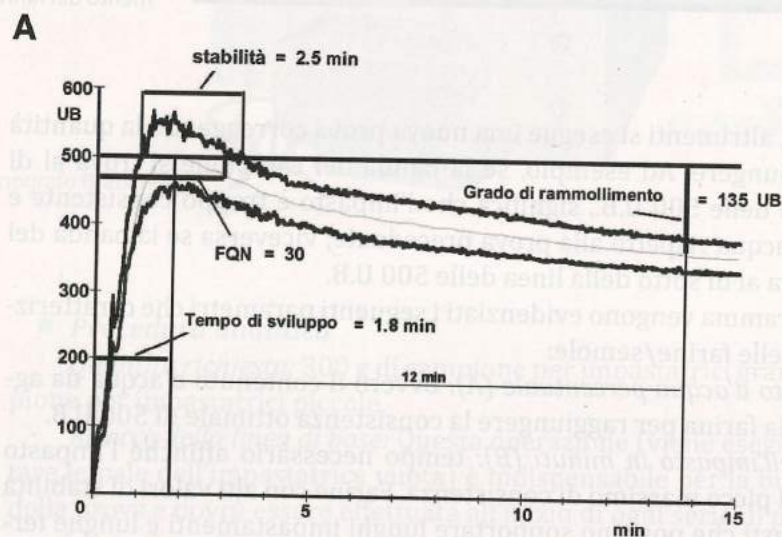


FIGURA 14.44 Esempi di farinogrammi: profilo standard (A); farinogramma di farina debole (B) e di farina forte (C).

### 3.2.6. Determinazione delle caratteristiche reologiche tramite estensografo

■ **Riferimento bibliografico**  
ISO 5530-2; ICC 114/1.

■ **Scopo**

Il test estensografico è associato al test farinografico e completa la visione delle qualità reologiche di un impasto.

■ **Procedura analitica**

Per l'estensografo la prova consta di tre prove a intervalli di tempo diverso: dopo 45-90-135 minuti. Il test richiede la conoscenza del valore di assorbimento dell'acqua della farina. Una volta ottenuto l'impasto con il farinografo, mescolando la farina e una soluzione di acqua al 2% in NaCl, lo si estrae, dividendolo in due parti da 150 g ciascuna. I due pezzi vengono quindi inseriti in una camera di lievitazione per 45 min a 30 °C; trascorso il tempo di riposo vengono sottoposti a stiramento tramite una sorta di uncino che muovendosi li sottopone a deformazione fino alla rottura. I dati della resistenza opposta dall'impasto alla trazione vengono registrati su un grafico che riporta in ascissa la lunghezza in mm mentre in ordinata le U.E. (Unità Estensografiche) in una scala che va da 0 a 1000.

La prova viene quindi ripetuta sul secondo cilindro di pasta. Il test si conclude infine con le altre due prove dopo 90 e 135 min.

La farina viene caratterizzata attraverso:

- la valutazione di energia che corrisponde alla superficie della curva misurata in cm<sup>2</sup>;
- la resistenza (R) che l'impasto oppone alla trazione, che corrisponde all'altezza della curva misurata a 50 mm dall'inizio della curva;
- l'estensibilità (E) che corrisponde alla lunghezza della curva misurata in mm sull'ascissa;
- il rapporto tra resistenza ed estensibilità (R/E).

Per la valutazione dell'attitudine panificatoria di una farina viene preso in considerazione il rapporto R/E: quando R/E è alto, l'impasto è molto consisten-

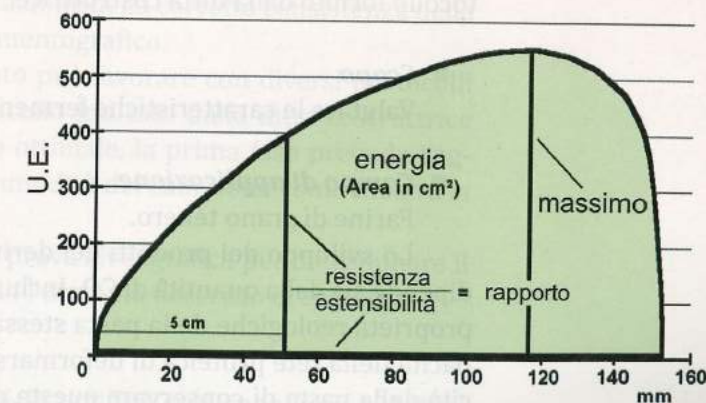
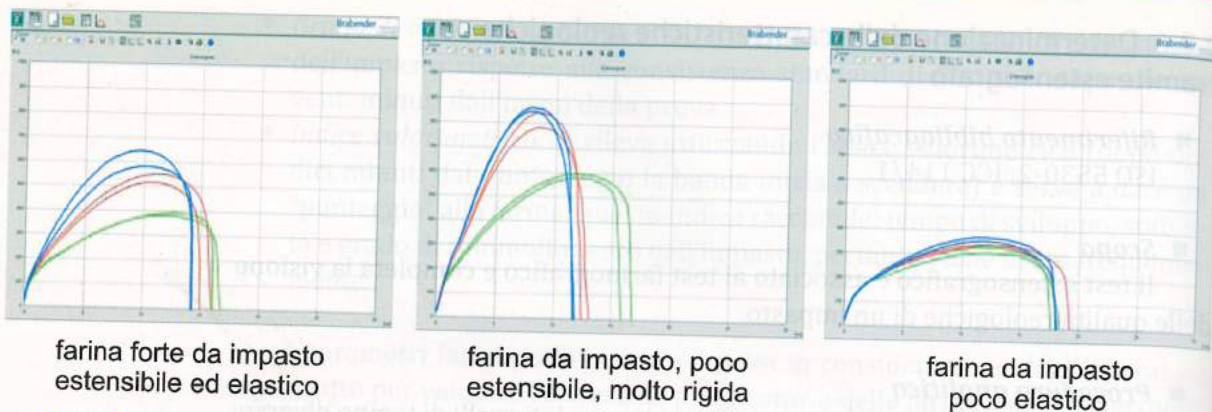


FIGURA 14.45 Estensografo ed estensogramma.



**FIGURA 14.46** Esempio di prove estensografiche su tre campioni di farina.

**TABELLA 14.9**

Attitudine panificatoria delle farine sulla base del test estensografico	
ATTITUDINE	R/E
Ottima	Compreso tra 0,5 e 1
Buona	>0,35
Discreta	>0,25
Mediocre	>0,10
Scadente	<0,10

te ma poco elastico; quando R/E è basso, l'impasto offre una bassa resistenza ma è molto elastico.

### 3.2.7. Determinazione delle caratteristiche reologiche tramite reofermentografo

#### ■ Riferimento bibliografico

Non esiste un metodo ufficiale di riferimento, viene pertanto seguito il protocollo fornito dalla ditta costruttrice.

#### ■ Scopo

Valutare le caratteristiche fermentative degli sfarinati di frumento.

#### ■ Campo di applicazione

Farine di grano tenero.

Lo sviluppo dei prodotti dei derivati dei cereali al momento della cottura dipende sia dalla quantità di CO<sub>2</sub> inclusa nella fase acquosa della pasta che dalle proprietà reologiche della pasta stessa. Questo sviluppo è in funzione della capacità della rete proteica di deformarsi sotto la pressione gassosa e della capacità della pasta di conservare questa pressione interna fino alla denaturazione termica delle proteine ed alla gelificazione dell'amido.



**FIGURA 14.47** Reofermentometro.

La misura delle possibilità fermentative della farina è dunque associata alla qualità della rete proteica della pasta durante il suo sviluppo.

#### ■ Principio del metodo

Il reofermentometro studia l'evoluzione durante la fermentazione di un campione di pasta messo in una vasca test e sottoposto a sollecitazioni imposte dal protocollo utilizzato (temperatura, pesi applicati, ecc.).

Nello strumento, il pistone è direttamente collegato ad un sensore di altezza, che misura lo sviluppo della pasta, mentre la vasca è collegata ad un sensore di pressione attraverso un circuito pneumatico, che misura l'aumento di pressione della pasta in fase di fermentazione.

Il risultato di un test è dunque formato da due tracciati: la curva di sviluppo della pasta e la curva di rilascio gas.

#### ■ Procedura analitica

**Quantità richiesta:** 250 g di campione.

La procedura consta di tre fasi: valutazione della corretta consistenza della pasta, preparazione della pasta e test fermentografico.

**Consistenza della pasta:** Lo strumento può lavorare con diversi protocolli scelti dall'operatore; utilizzando il protocollo indicato dalla ditta costruttrice per la determinazione dell'assorbimento ottimale, la prima fase prevede l'aggiunta di acqua in funzione del valore di umidità del campione come mostra la Tabella 14.10.

Successivamente viene eseguita una prova alveografica per determinare il valore di Pmax; infine si procede seguendo l'esempio descritto di seguito.

**Utilizzazione del prospetto (esempio):**

Ad una farina con un valore di 14,6% in umidità corrispondono 126,8 ml d'acqua (Tabella 14.10).

TABELLA 14.10

Quantità di acqua da aggiungere in funzione del valore di umidità del campione			
PROSPETTO N° 1			
QUANTITÀ D'ACQUA DA AGGIUNGERE ALL'IMPASTO IN FUNZIONE DELL'UMIDITÀ DELLA FARINA			
Tenore in acqua (%)	Volume d'acqua (mL)	Tenore in acqua (%)	Volume d'acqua (mL)
11,6	140,1	14,2	128,6
11,8	139,2	14,4	127,7
12,0	138,3	14,6	126,8
12,2	137,5	14,8	125,9
12,4	136,6	15,0	125,0
12,6	135,7	15,2	124,1
12,8	134,8	15,4	123,2
13,0	133,9	15,6	122,3
13,2	133,0	15,8	121,4
13,4	132,1	16,0	120,6
13,6	131,2	16,2	119,7
13,8	130,3	16,4	118,8
14,0	129,4	16,6	117,9

$H_2O = 14,6\%$ ;  $P_{max}$  alveografico = 55

La correzione da apportare in funzione di P è di  $-1,69$  mL; l'idratazione della farina dovrà quindi essere:  $126,8$  mL  $- 1,69$  mL =  $125,11$  mL.

*Preparazione della pasta:*

Il protocollo è il seguente:

- temperatura:  $28,5$  C°;
- composizione della pasta: 250 g di farina, 3 g (1,2%) di lievito secco istantaneo (o 7g di lievito fresco per panificazione), 5 g di sale, idratazione come da prospetto precedente;
- mescolare il lievito secco istantaneo ai 250 g di farina nella vasca dell'impastatrice (se viene utilizzato lievito fresco, scioglierlo nell'acqua d'idratazione);
- all'inizio del primo minuto dopo aver aggiunto l'acqua, fermare l'impastatrice e verificare con una spatola che tutte le particelle di farina siano state ben idratate e partecipino alla formazione della pasta; rimettere poi l'impastatrice in funzione fino ai 6 minuti di impastamento previsti.
- il sale verrà aggiunto progressivamente all'inizio del periodo di 6 min; una volta terminata l'impastatura, tirare fuori tutta la pasta e prelevarne 315 g;
- inserirla nel cestello del reofermentometro;
- la massa applicata sul campione è di 2 kg e la durata del test di 3 ore.

*Interpretazione delle curve*

La curva di rilascio gas (Fig. 14.49) permette di determinare il coefficiente

TABELLA 14.11

Quantità di acqua per la correzione dell'idratazione della farina per il raggiungimento del $P_{max}$							
PROSPETTO N° 2							
QUANTITÀ D'ACQUA DA TOGLIERE O AGGIUNGERE							
P	Qtà $H_2O$ (mL)	P	Qtà $H_2O$ (mL)	P	Qtà $H_2O$ (mL)	P	Qtà $H_2O$ (mL)
20	-15,61	66	2,0172	112	14,1428	158	20,7668
21	-15,1683	67	2,3393	113	14,3453	159	20,8497
22	-14,7292	68	2,6588	114	14,5452	160	20,93
23	-14,2927	69	2,9757	115	14,7425	161	21,0077
24	-13,8588	70	3,29	116	14,9372	162	21,0828
25	-13,4275	71	3,6017	117	15,1293	163	21,1553
26	-12,9988	72	3,9108	118	15,3188	164	21,2252
27	-12,5727	73	4,2173	119	15,5057	165	21,2925
28	-12,1492	74	4,5212	120	15,69	166	21,3572
29	-11,7283	75	4,8225	121	15,8717	167	21,4193
30	-11,31	76	5,1212	122	16,0508	168	21,4788
31	-10,8943	77	5,4173	123	16,2273	169	21,5357
32	-10,4812	78	5,7108	124	16,4012	170	21,59
33	-10,0707	79	6,0017	125	16,5725	171	21,6417
34	-9,6628	80	6,29	126	16,7412	172	21,6908
35	-9,2575	81	6,5757	127	16,9073	173	21,7373
36	-8,8548	82	6,8588	128	17,0708	174	21,7812
37	-8,4547	83	7,1393	129	17,2317	175	21,8225
38	-8,0572	84	7,4172	130	17,39	176	21,8612
39	-7,6623	85	7,6925	131	17,5457	177	21,8973
40	-7,27	86	7,9652	132	17,6988	178	21,9308
41	-6,8803	87	8,2353	133	17,8493	179	21,9617
42	-6,4932	88	8,5028	134	17,9972	180	21,99
43	-6,1087	89	8,7677	135	18,1425	181	22,0157
44	-5,7268	90	9,03	136	18,2852	182	22,0388
45	-5,3475	91	9,2897	137	18,4253	183	22,0593
46	-4,9708	92	9,5468	138	18,5628	184	22,0772
47	-4,5967	93	9,8013	139	18,6977	185	22,0925
48	-4,2252	94	10,0532	140	18,83	186	22,1052
49	-3,8563	95	10,3025	141	18,9597	187	22,1153
50	-3,49	96	10,5492	142	19,0868	188	22,1228
51	-3,1263	97	10,7933	143	19,2113	189	22,1277
52	-2,7652	98	11,0348	144	19,3332	190	22,13
53	-2,4067	99	11,2737	145	19,4525	191	22,1297
54	-2,0508	100	11,51	146	19,5692	192	22,1268
55	-1,6975	101	11,7437	147	19,6833	193	22,1213
56	-1,3468	102	11,9748	148	19,7948	194	22,1132
57	-0,9987	103	12,2033	149	19,9037	195	22,1025
58	-0,6532	104	12,4292	150	20,01	196	22,0892
59	-0,3103	105	12,6525	151	20,1137	197	22,0733
60	0,03	106	12,8732	152	20,2148	198	22,0548
61	0,3677	107	13,0913	153	20,3133	199	22,0337
62	0,7028	108	13,3068	154	20,4092	200	22,01
63	1,0353	109	13,5197	155	20,5025		
64	1,3652	110	13,73	156	20,5932		
65	1,6925	111	13,9377	157	20,6813		

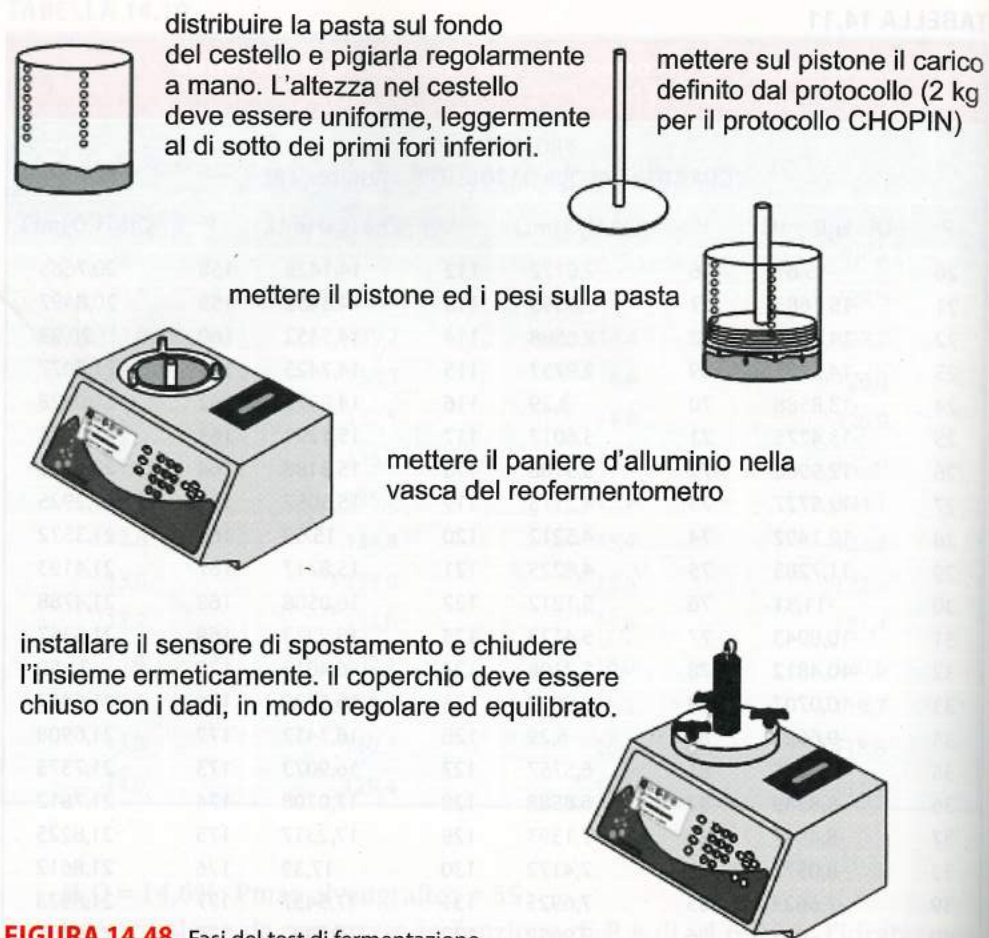


FIGURA 14.48 Fasi del test di fermentazione.

di ritenzione  $R$  definito come il rapporto in % tra il volume di gas trattenuto nella pasta ed il volume totale di gas prodotto durante il test.  $R$  è molto vicino a 100 con le farine raffinate, può scendere fino a 50/60 per farine provenienti dagli strati esterni dell'endosperma o per farine estratte da chicchi avariati o mal conservati. È evidente che il prolungarsi del rilascio di  $\text{CO}_2$  nel tempo è un fattore principale; inoltre, dato che le misure si effettuano a temperature comprese tra  $27^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$ , con il reofermentometro l'azione degli enzimi di origine fungina è molto visibile.

TABELLA 14.12

Capacità fermentativa	
CAPACITÀ FERMENTATIVA	mL DI $\text{CO}_2$
Bassa	<1300
Normale	1300-1600
Alta	>1600

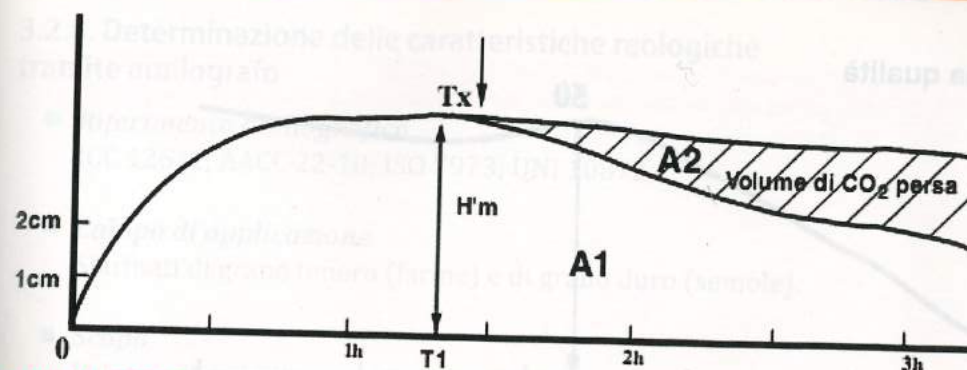


FIGURA 14.49 Curva di rilascio gas.

$H'm$ : altezza massima della curva di rilascio gas;  $T1$ : tempo necessario per ottenere  $H'm$ ;  $Tx$ : tempo di apparizione della porosità della pasta (momento in cui la pasta comincia ad emettere  $\text{CO}_2$ ); Volume totale: volume totale di rilascio gas in mL ( $A1+A2$  della curva); Volume  $\text{CO}_2$  perso: volume di anidride carbonica in mL che la pasta ha emesso durante la fermentazione ( $A2$ ); Volume di ritenzione: volume di anidride carbonica in mL ancora presente nella pasta alla fine del test ( $A1$ ).

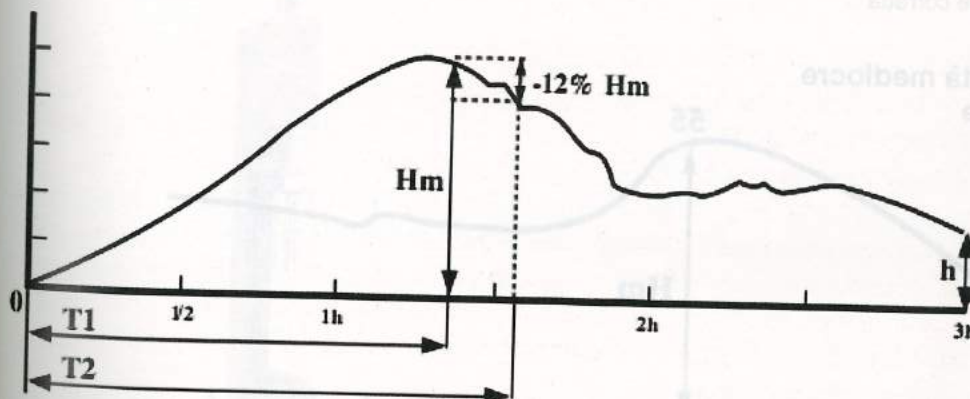
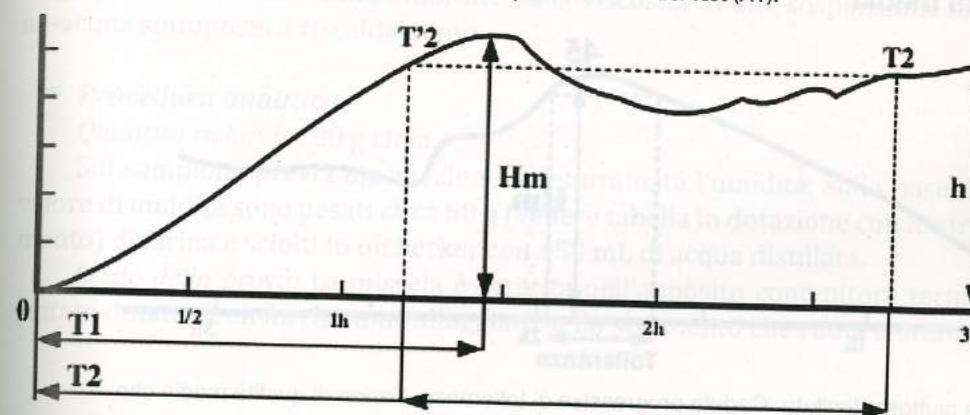


FIGURA 14.50 Curva di sviluppo della pasta.

$T1$ : tempo di sviluppo massimo della pasta espresso in ore e minuti;  $Hm$ : altezza di sviluppo massimo della pasta sotto i pesi, espressa in mm;  $T2$  e  $T'2$ : tempo di relativa stabilizzazione al punto massimo situato ad un'altezza di  $0,88 Hm$  senza essere inferiore a  $Hm-6\text{mm}$ ;  $\Delta T2 = T2-T'2$  = tolleranza della pasta;  $h$ : altezza di sviluppo della pasta alla fine del test ( $T$ : 3 ore per un test completo con protocollo CHOPIN, o  $T$ : x per un test interrotto manualmente con un altro protocollo);  $(Hm-h)/Hm$ : % di diminuzione di sviluppo a 3 ore (caso del protocollo CHOPIN) rispetto a  $T1$ .  
La misura di questi cinque valori fornisce indicazioni per valutare la qualità degli impasti.  $T1$  ed  $(Hm-h)/Hm$  indicano i momenti ottimali per lavorare la pasta; il tempo  $T1$  è collegato strettamente alla "rapidità" del lievito ed alla sua attività; l'altezza  $Hm$  è in relazione col volume dei pani;  $T2$  è un indicatore della tolleranza delle paste in corso di fermentazione.

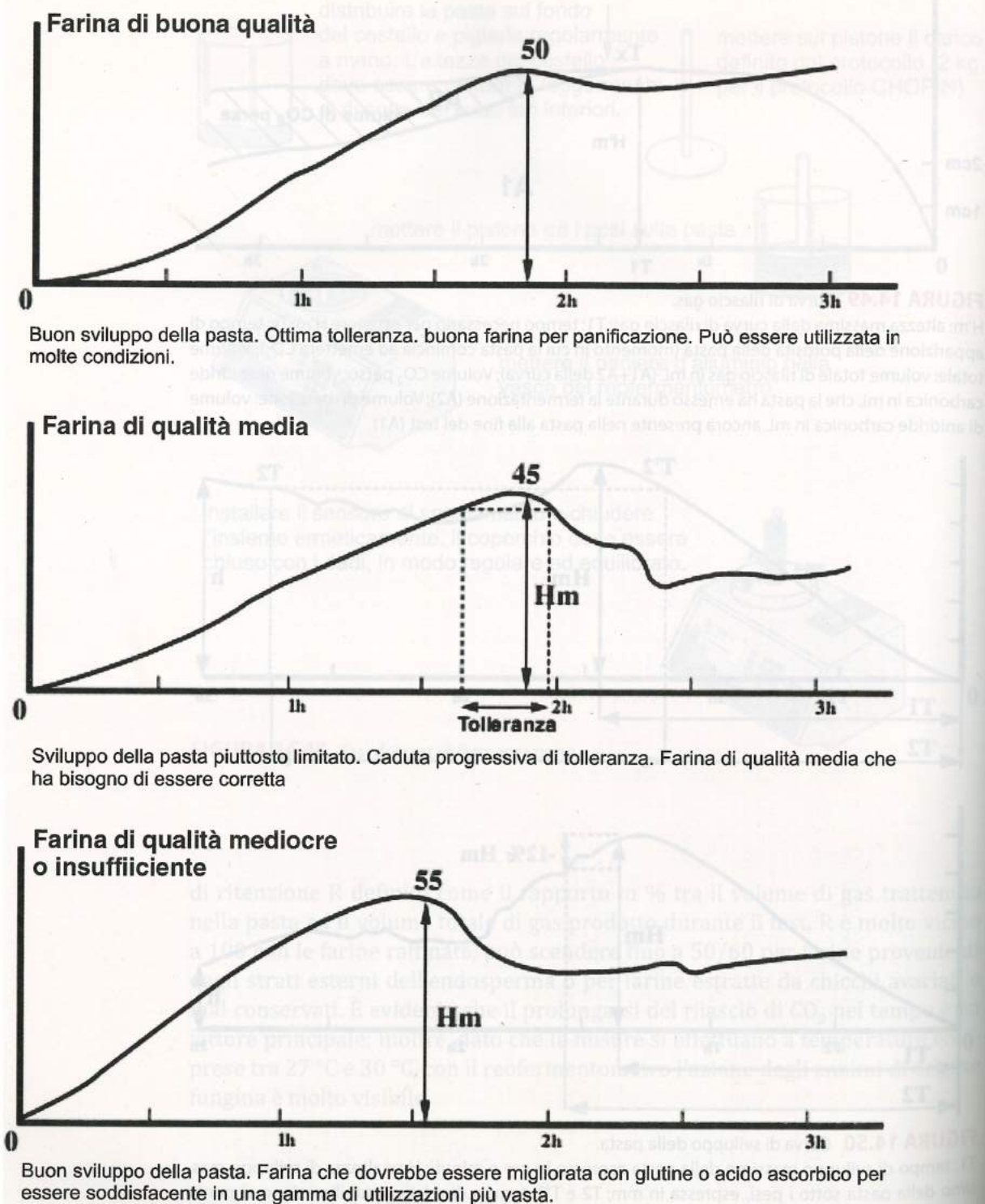


FIGURA 14.51 Esempi di farine diverse.

### 3.2.8. Determinazione delle caratteristiche reologiche tramite amilografo

#### ■ Riferimento bibliografico

ICC 126/1; AACC 22-10; ISO 7973; UNI 10872.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero (farine) e di grano duro (semole).

#### ■ Scopo

Valutare l'attitudine panificatoria degli sfarinati di frumento sia tenero che duro mediante la misura dell'attività  $\alpha$ -amilasica della farina.

#### ■ Principio del metodo

Il metodo prevede la determinazione, tramite amilografo, delle proprietà di gelatinizzazione dell'amido indicate dalla viscosità di una sospensione farina-acqua sottoposta a riscaldamento.

#### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 80 g circa.

Sul campione previa macinazione è determinata l'umidità; sulla base del valore di umidità sono pesati circa 80 g (vedere tabella in dotazione con lo strumento) di farina e sciolti in un becker con 450 mL di acqua distillata.

Inizio della prova: La miscela è inserita nell'apposito contenitore termostato dotato di un forchettone alloggiato nello strumento che ruota continua-



FIGURA 14.52 Amilografo.



TABELLA 14.13

Attitudine panificatoria delle farine in funzione dell'attività amilasica			
ATTIVITÀ AMILASICA	ATTIVITÀ AMILASICA (u.a.)	TEMPERATURA DI GELATINIZZAZIONE (°C)	ATTITUDINE
2 - Ottimale	650	85	Impasto ottimale
1 - Alta	300		Impasto appiccicoso
3 - Bassa	1000		Impasto rigido

mente. Il forchettono incontra una resistenza che dipende dallo stato della soluzione gelatinizzata.

L'innalzamento della temperatura è di circa 1,5 °C al minuto. La resistenza incontrata viene registrata da un pennino.

La visualizzazione dei dati avviene su un grafico dove in ascissa è riportato il tempo in minuti mentre in ordinata la consistenza dell'impasto in U.B. La scala della consistenza va da 0 a 1000 e presenta una linea centrale corrispondente alla consistenza di 500 U.B.

Al punto di massima resistenza viene anche determinata la temperatura di gelatinizzazione.

### 3.2.9. Falling Number (indice di caduta di Hagberg-Perten)

#### ■ Riferimento bibliografico

ICC 107/1; AACC 56-81B; UNI EN ISO 3093.

#### ■ Campo di applicazione

Sfarinati di grano tenero e di grano duro.

#### ■ Scopo

Misurare l'attività  $\alpha$ -amilasica degli sfarinati.

#### ■ Principio del metodo

Il metodo prevede la rapida gelatinizzazione dell'amido presente in una sospensione di sfarinato (sottoposto ad agitazione), in un bagno di acqua bollente, e la successiva misura della liquefazione ad opera dell' $\alpha$ -amilasi endogena.

#### ■ Procedura analitica

Quantità richiesta: 7 g circa.

Accensione dello strumento: Dopo l'accensione dello strumento si attende che la temperatura del bagno maria raggiunga la temperatura di esercizio.

Preparazione del campione: Il campione di granella (300 g) viene macinato con un molino da laboratorio (Laboratory Mill LM 3100 o LM 120) equipaggiato con un vaglio di 0,8 mm di diametro, quindi sullo stesso viene determinata l'umidità. In base al valore di umidità vengono pesati circa 7 g di farina (vedi Tabella 14.14) e sospesi in 25 mL di acqua in un tubo test dotato di agitatore-viscosimetro che varia, in un tempo misurato in secondi, la sua posizione dall'alto fino ad arrivare sul fondo del tubo, in funzione della resistenza che il campione gelatinizzato fornisce.

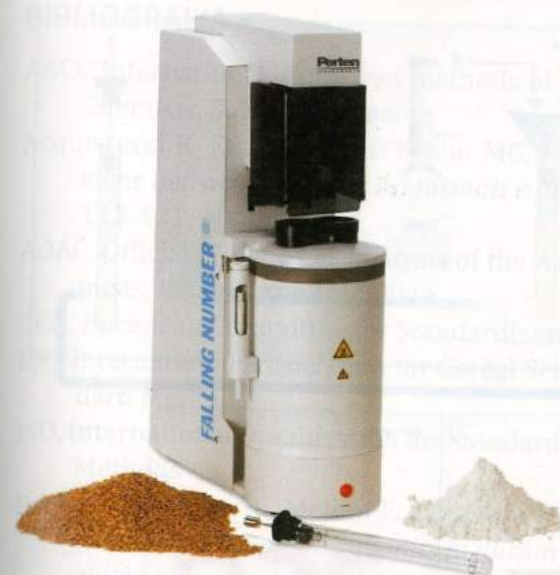


FIGURA 14.53 Strumento per la misura del Falling Number.

TABELLA 14.14

Correzione del peso del campione sulla base del 14% di umidità					
UMIDITÀ	PESO (g)	UMIDITÀ	PESO (g)	UMIDITÀ	PESO (g)
8,0	6,54	11,4	6,80	14,8	7,07
8,2	6,56	11,6	6,81	15,0	7,08
8,4	6,57	11,8	6,83	15,2	7,10
8,6	6,59	12,0	6,84	15,4	7,12
8,8	6,60	12,2	6,86	15,6	7,13
9,0	6,62	12,4	6,87	15,8	7,15
9,2	6,63	12,6	6,89	16,0	7,17
9,4	6,64	12,8	6,90	16,2	7,18
9,6	6,66	13,0	6,92	16,4	7,20
9,8	6,67	13,2	6,94	16,6	7,22
10,0	6,69	13,4	6,95	16,8	7,24
10,2	6,70	13,6	6,97	17,0	7,25
10,4	6,72	13,8	6,98	17,2	7,27
10,6	6,73	14,0	7,00	17,4	7,29
10,8	6,75	14,2	7,02	17,5	7,31
11,0	6,76	14,4	7,03	17,8	7,32
11,2	6,78	14,6	7,04		

Inizio della prova: Prima che il tubo venga inserito nel bagnomaria viene agitato per circa 12 volte a mano fino a che la sospensione sia omogenea. Successivamente viene posto nel bagno in acqua bollente in modo che l'amido si gelatinizzi; dopo 60 secondi dall'introduzione del tubo nel bagno, l'agitatore viene liberato dalla posizione superiore e scendendo incontra una resistenza che dipende dallo stato della soluzione gelatinizzata.

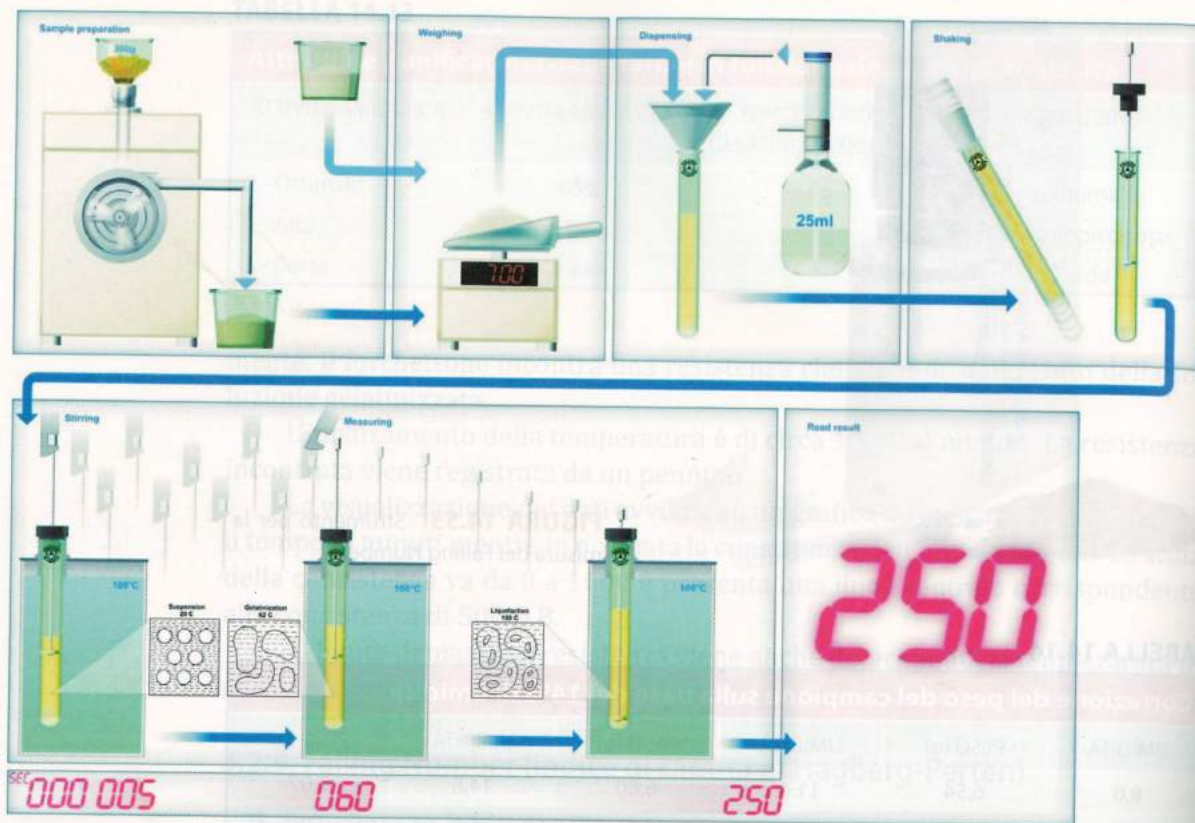


FIGURA 14.54 Procedura analitica.

Lo stato fisico della soluzione gelatinizzata dipenderà dalla concentrazione delle amilasi della soluzione che, se presenti in sufficiente quantità, favoriranno la veloce discesa dell'agitatore per la scarsa resistenza incontrata; al contrario per una scarsa presenza di amilasi la sospensione rimarrà per maggiore tempo gelatinizzata, poco liquefatta e l'agitatore di conseguenza scenderà più lentamente incontrando una maggiore resistenza.

La Figura 14.54 mostra in brevi linee la procedura analitica: dalla macinazione specifica all'inserimento del campione nel tubo test e nel bagno, fino all'ottenimento del risultato.

Il parametro che si ricava dall'analisi è la misura del tempo trascorso dall'introduzione del tubo nel bagno fino all'arrivo sul fondo del tubo test dell'agitatore viscosimetro.

Con valori di Falling Number maggiori di 300 secondi, l'attività  $\alpha$ -amilasica è debole e si può intervenire aggiungendo malto o farine maltate, per incrementare l'attività enzimatica; valori di Falling Number compresi fra 200 secondi e 250 secondi indicano un'attività  $\alpha$ -amilasica ottimale per la panificazione; con valori di Falling Number inferiori a 200 secondi l'attività  $\alpha$ -amilasica è elevata e l'impasto per la panificazione potrebbe risultare molle e appiccicoso.

## BIBLIOGRAFIA

- AACC International, Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, St Paul Minnesota
- Acquistucci R, Fantauzzi P, D'Egidio MG, Iori A, Onori R, Grossi S. *Determinazione dell'acidità libera in sfarinati e paste alimentari*, Tecnica Molitoria, 2, 113-121, 2000
- AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington DC 20044
- CEN, European Committee for Standardization, Brussels. Standard Methods
- ICC, International Association for Cereal Science and Technology, Vienna. Standard Methods
- ISO, International Organization for Standardization, Ginevra, Svizzera. Standard Methods
- Pogna NE, Autran JC, Mellini F, Lafiandra D, Feillet P. *Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: Genetics and relationship to gluten strength*. J Cereal Sci, 11, 15-34, 1990
- UNI, Ente nazionale di Unificazione, Milano, Metodi standard

Un ringraziamento particolare va alla memoria di Andrea Conciatori, prematuramente scomparso, che ha collaborato con entusiasmo e dedizione alla preparazione di questo capitolo.