



**Università degli Studi di Bologna**

*(Sede amministrativa)*



**Università degli Studi di Perugia**

*(Sede consorziata)*

**Facoltà di Agraria**



Dipartimento di Scienze Economico-Estimative e degli Alimenti  
Sezione di Tecnologie e Biotecnologie degli Alimenti

**Dottorato di Ricerca in Biotecnologie degli Alimenti**

**Settore Scientifico-Disciplinare:  
AGR/15 SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI**

**VALUTAZIONI ANALITICHE, GESTIONALI E LEGISLATIVE  
NELLA FILIERA DEL LATTE ALIMENTARE**

**Dottorando**

**Dott. Gian Luca Montuoro**

**Coordinatore**

**Prof. Giuseppe Losi**

**Relatore**

**Prof. Luigi Montanari**

**DOTTORATO XIX CICLO, ANNO ACCADEMICO 2005/2006**

*A Giacomo*

# INDICE

Indice	PAG
<b>PARTE PRIMA</b>	<b>1</b>
<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
<b>I.1 Sintesi e secrezione del latte vaccino</b>	<b>3</b>
I.1.1 La ghiandola mammaria	3
I.1.2 Meccanismi fisiologici della secrezione e dell'eiezione del latte	5
1. <i>Secrezione</i>	5
2. <i>Eiezione</i>	5
I.1.3 Sintesi del latte	6
I.1.4 Neosintesi degli acidi grassi	10
I.1.5 Biosintesi del lattosio	11
I.1.6 Biosintesi delle proteine	12
I.1.7 Valori dei principali indici chimico-fisici del latte	13
<b>I.2 Caratteristiche microbiologiche</b>	<b>14</b>
I.2.1 Cellule somatiche	14
I.2.2 Microrganismi	14
<b>PARTE SECONDA</b>	<b>16</b>
<b>II.1 Scopi del lavoro di dottorato</b>	<b>16</b>
<b>II.2 Riferimenti normativi</b>	<b>18</b>
II.2.1 Escursus normativo nel settore del latte	18
II.2.2 Il Reg.(CE) n° 178/2002, la rintracciabilità del latte e la scadenza	24
II.2.3 Il "pacchetto igiene"	28
1. <i>Regolamento (CE) 852/2004</i>	29
2. <i>Regolamento (CE) 853/2004</i>	29
3. <i>Regolamento (CE) 854/2004</i>	30
4. <i>Regolamento (CE) 882/2004</i>	30
5. <i>Direttiva 2002/99/CE</i>	31
6. <i>Indicazioni relative alle temp. di stoccaggio, trasporto di latte</i>	31
7. <i>Regolamento (CE) 183/2005</i>	32
8. <i>Coesistenza ed abrogazioni</i>	32
<b>II.3 Tipologie di latte alimentare</b>	<b>33</b>
II.3.1 I processi di lavorazione del latte	34
II.3.2 I processi tradizionali di lavorazione del latte	37
1. <i>Premessa</i>	37
2. <i>Latte Pastorizzato(breve conservazione)</i>	37
3. <i>Latte UHT(media conservazione)</i>	39
4. <i>Latte Sterilizzato(lunga conservazione)</i>	40
II.3.3 Le nuove esigenze dei consumatori	40
II.3.4 I nuovi prodotti ed i nuovi processi	42
1. <i>Tecnologie per l'estensione della shelf-life</i>	42
2. <i>Microfiltrazione</i>	42
3. <i>Alto pastorizzato</i>	44
4. <i>Pascalizzazione</i>	45
5. <i>Battofugazione</i>	46
5. <i>Latte biologico</i>	46
6. <i>Latte crudo</i>	47

<b>PARTE TERZA</b>	<b>49</b>
<b>III.1 Il siero di latte</b>	<b>49</b>
III.1.1 Composizione	49
III.1.2 Le sieroproteine	50
III.1.3 Produzioni e destinazioni	51
<b>III.2 Parte sperimentale</b>	<b>56</b>
III.2.1 Materiali e metodi chimico analitici	56
1. <i>Primo ciclo</i>	57
2. <i>Secondo ciclo</i>	59
III.2.2 Tecniche di campionamento e stoccaggio dei campioni	60
III.2.3 Prove di stabilità o saggi di freschezza	60
1. <i>Prova all'alcool</i>	61
2. <i>Prova al calore</i>	61
3. <i>Acidità di titolazione</i>	61
4. <i>Concentrazione idrogenionica</i>	62
III.2.4 Altre prove	63
1. <i>Separazione del siero</i>	63
2. <i>Determinazione della sostanza secca</i>	63
III.2.5 Determinazione delle sostanze azotate	64
1. <i>Metodo Kjeldahl</i>	64
2. <i>Metodo Dumas</i>	66
3. <i>Analizzatore FP-528</i>	69
III.2.6 Controlli microbiologici	74
III.2.7 Indagini su latte UHT	74
III.2.8 Risultati e discussione sezione analitica	76
1. <i>Prove di stabilità, pH e acidità di titolazione</i>	76
2. <i>Determinazione della componente azotata nel siero</i>	85
3. <i>Andamento delle sieroproteine</i>	89
4. <i>Andamenti dei parametri microbiologici</i>	92
5. <i>Test di recupero</i>	93
6. <i>Confronto fra i due Metodi</i>	94
7. <i>Latte UHT</i>	96
8. <i>Considerazioni conclusive della parte analitica</i>	102
<b>PARTE QUARTA</b>	<b>104</b>
<b>IV.1 Descrizione dell'azienda: "Coop fra produttori di latte Cisternino"</b>	<b>105</b>
<b>IV.2 Linee guida per la rintracciabilità del latte fresco</b>	<b>107</b>
IV.2.1 Introduzione legislativa	107
IV.2.2 Linee guida PER la stesura del manuale di rintracciabilità	109
IV.2.3 Applicazione delle linee guida presso la cooperativa	113
1. <i>Parte generale</i>	113
2. <i>Parte speciale</i>	116
IV.2.4 Integrazione dei sistemi di rintracciabilità ed HACCP	121
IV.2.5 Conclusioni relative all'applicazione del sistema di rintracciabilità	124
Schede rilevamento dati	126
<b>CONSIDERAZIONI FINALI</b>	<b>135</b>
<b>ALLEGATO 1</b>	<b>I</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>III</b>

## PARTE PRIMA

### INTRODUZIONE

Durante il corso della propria vita ogni mammifero almeno nella prima fase, ovvero quella dell'allattamento, ha avuto un'alimentazione a base di latte. Questo perché, il latte ottenuto dopo il parto (colostro) di qualsiasi mammifero è in grado di apportare tutti i principi nutritivi ed immunitari, tali da soddisfare nel miglior modo possibile le esigenze alimentari del nuovo nato. Il colostro è tipico dei mammiferi con placenta sindesmocoriale e cioè impermeabile agli anticorpi.

Il colostro è un liquido vischioso, di colore giallo e quantitativamente molto diverso dal latte maturo: è più ricco di proteine, in particolare immunoglobuline adatte alla difesa immunitaria del neonato (immunità passiva), di vitamine, di lipidi e di sali minerali (tab.1). per quanto riguarda la componente glucidica (lattosio), esso è contenuto in quantità inferiori nel colostro rispetto al latte. Dopo questa fase colostrale, si ha una fase in cui è secreto il latte di transizione seguito dalla secrezione del latte definitivo o maturo (Bastasin, 1991).

L'importanza del latte come alimento è dimostrata dalla funzione da esso svolta come prima ed esclusiva fonte di nutrimento per i piccoli dei mammiferi, ai quali il latte fornisce tutte le sostanze necessarie alla fase di intenso accrescimento che segue la nascita. Un'importante esempio della validità nutrizionale del latte si riscontra nella specie umana, dove nei primi cinque mesi di vita esso consente al neonato di raddoppiare addirittura il proprio peso (Pizzoferrato, <http://Inn.Ingrm.it/Documentazione/latte.pdf>).

Il latte non esaurisce certo la sua funzione alimentare dopo lo svezzamento infatti, anche in questa fase dove la dieta è completata dall'apporto energetico e proteico di altri alimenti, esso continua a costituire un'importante fonte di principi nutritivi, in particolare di proteine e di calcio per tutto il corso della vita (Pizzoferrato, <http://Inn.Ingrm.it/Documentazione/latte.pdf>).

Il latte è un liquido di complessa composizione, bianco e opaco, dal sapore dolce e con un pH vicino alla neutralità (Alais, 1988). Esso è un'emulsione di sostanza grassa sotto forma globulare, in un liquido, il siero, che presenta delle analogie con il plasma sanguigno. Questo liquido è a sua volta una sospensione di materie proteiche in una soluzione neutra

contenente principalmente lattosio e sali minerali. Ci sono dunque, nel latte, quattro tipi di componenti importanti:

- Lipidi, formati essenzialmente da grassi neutri (trigliceridi),
- Proteine (caseine, albumine e globuline),
- Glucidi, essenzialmente il lattosio,
- Sali minerali.

Inoltre, ci sono altri costituenti presenti in quantità inferiori: lecitine, vitamine, enzimi, nucleotidi, gas disciolti, ecc., alcuni dei quali hanno una grande importanza per la loro attività biologica (Alais, 1988).

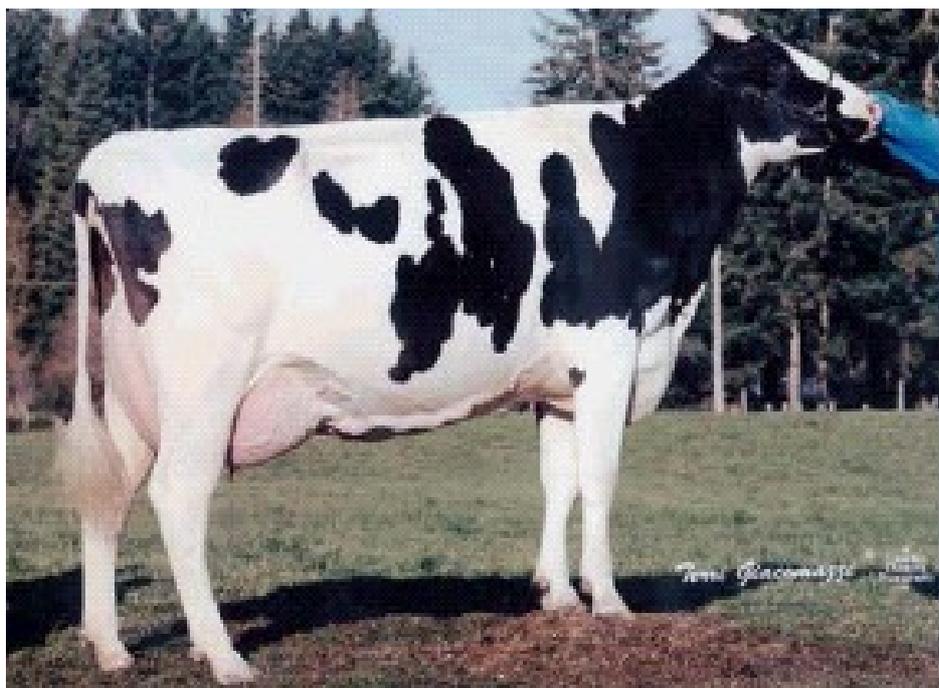
**Tab. 1** Composizione del latte e del colostro vaccino

		<b>COLOSTRO</b>	<b>LATTE</b>
<b>GRASSO</b>	(%)	<b>3,6</b>	<b>3,5-3,6</b>
<b>PROTEINE</b>	(%)	<b>14,3</b>	<b>3,25</b>
• Caseine	(%)	<b>5,12</b>	<b>2,6</b>
• Albumina	(%)	<b>1,5</b>	<b>0,47</b>
• $\alpha$ -lattoalbumina	(%)	<b>0,27</b>	<b>0,13</b>
• $\beta$ -lattoglobulina	(%)	<b>0,8</b>	<b>0,3</b>
• sieroalbumina	(%)	<b>0,13</b>	<b>0,04</b>
• immunoglobuline	(%)	<b>5,5-6,8</b>	<b>0,09</b>
<b>LATTOSIO</b>	(%)	<b>3,1</b>	<b>4,6</b>
<b>CENERI</b>	(%)	<b>0,97</b>	<b>0,75</b>
• Calcio	(%)	<b>0,26</b>	<b>0,13</b>
• Fosforo	(%)	<b>0,24</b>	<b>0,11</b>
<b>VITAMINA A</b>	( $\mu\text{g/g}$ grasso)	<b>42,-48</b>	<b>8</b>
<b>VITAMINA B</b>	(UI/g grasso)	<b>0,9-1,8</b>	<b>0,6</b>
<b>VITAMINA E</b>	( $\mu\text{g/g}$ grasso)	<b>100-150</b>	<b>20</b>

Nel II° Congresso internazionale per la repressione delle frodi sulle sostanze alimentari, tenutosi a Parigi nel 1910, si definì il latte come “prodotto integrale di una mungitura totale, completa ed ininterrotta di una femmina lattifera, sana, bene alimentata e non affaticata. Esso deve essere raccolto con proprietà e non deve contenere colostro. La denominazione di latte, senza alcuna specificazione, non si applica che al latte di vacca”

(Rossi, 1993). Successivamente, dal punto di vista legale (R.D. 09-05-1929 n. 994 e successive modifiche) si precisò la definizione del latte alimentare come “ il prodotto ottenuto dalla mungitura regolare, ininterrotta e completa di animali in buono stato di salute e di nutrizione”. Il termine “latte” da solo indica quello di vacca (*Bos taurus*) ( fig.1); per latti di provenienza diversa occorre specificare l’origine (Cappelli, 1990).

**Fig. 1 Frisona italiana**



## **I.1 SINTESI E SECREZIONE DEL LATTE VACCINO**

### **I.1.1 LA GHIANDOLA MAMMARIA**

Il latte si forma nelle cellule dell’epitelio delle ghiandole mammarie, riempiendo un alveolo. La mammella contiene un gran numero di vescicole chiamate acini, il loro raggruppamento e il dispositivo collettore variano con le specie. L’embriologia dimostra che la mammella è un insieme di ghiandole sudoripare modificate (fig.2) (Alais, 1988).

Nella bovina da latte, ci sono in realtà quattro ghiandole indipendenti, abitualmente denominate “quartieri” che presentano anatomicamente in comune un involucro cutaneo. Le unità secernenti che costituiscono la massa ghiandolare sono gli alveoli (fig.2) o acini che come evidenziato in precedenza sono riuniti in grappoli a formare i lobuli (Succi, 2005); questi comunicano, attraverso un tubo collettore ramificato, con il seno galattoforo situato alla base della mammella che sbocca nella cavità del capezzolo tramite una piega della mucosa.

Il capezzolo (fig.2) si apre all'esterno in un sottile canale ed un piccolo sfintere (fig.2) ne assicura l'occlusione. L'insieme forma un serbatoio dotato di notevole capacità valutabile quantitativamente con un volume di quattro litri per ogni quartiere della ghiandola mammaria, facendo riferimento ad una lattifera nella media e ben alimentata.

La mammella (fig.2) è copiosamente irrigata da due grossi nodi capillari alimentati dall'arteria esterna chiamata prepubica (Beghelli. et al, 1998). Occorre notare che alcune cellule mononucleari mobili (leucociti o globuli bianchi con un solo nucleo) si infiltrano normalmente all'interno delle pareti degli acini, passando così nel latte (Alais, 1988).

Il flusso sanguigno nella mammella è molto elevato e, viene valutato intorno a 400 litri la quantità di plasma sanguigno che deve essere "filtrato" perché si formi 1l di latte, nel caso di buone lattifere ben alimentate infatti, se vengono meno i requisiti genetici e le condizioni alimentari delle bovine, la quantità di sangue necessaria alla produzione della stessa quota di latte può arrivare anche a 1000l. Dai dati sopra riportati si devono trarre alcune importanti osservazioni per quanto riguarda la produzione del latte bovino (Alais, 1988):

- La suddivisione della ghiandola mammaria in quattro quartieri indipendenti, fa sì che si possano evidenziare le diverse produzioni, singolarmente e ciò giova molto al controllo delle infezioni della ghiandola mammaria, in quanto possono colpire anche un solo quarto della stessa.
- L'esistenza di un sistema cellulare convergente verso uno sbocco unico rende inevitabile l'estensione di un'infezione all'intero quartiere. L'elevata capacità della mammella fa sì che, in periodo di pienezza, essa possa costituire un ambiente ideale per lo sviluppo dei diversi microrganismi.
- La sospensione non elastica della ghiandola mammaria comporta un prolasso della stessa ogni qual volta vi siano state delle deformazioni, sia che si tratti di episodi da ricondurre alle caratteristiche morfologiche dell'animale o che sia causata da una non corretta pratica di mungitura. Questo fenomeno, caratterizza l'allungamento dei tessuti e il pericolo di infezioni.
- Le condizioni dell'orifizio del capezzolo (meato) rivestono notevole importanza in quanto barriera contro la penetrazione dei germi. A questo proposito, occorre segnalare il contrasto che si manifesta tra la facilità della mungitura, poiché l'orifizio si apre abbondantemente e la protezione contro l'infezione.

- L'infezione della mammella può avere un'origine "endogena", cioè provenire da germi portati dal sangue oppure "esogena", proveniente dall'ambiente.
- La migrazione leucocitaria dalla mammella nel latte è un fatto fisiologico ma essa è responsabile solo del passaggio di un numero limitato di cellule. La presenza di numerosi leucociti, soprattutto polinucleati, ha un significato patologico (Alais, 1988).

**Fig. 2 La ghiandola mammaria**

Fonte, dispense prof. Paeselli,  
Università degli Studi di Perugia.



## 1.1.2 MECCANISMI FISIOLGICI DELLA SECREZIONE E DELL'EIEZIONE DEL LATTE

### 1. Secrezione

L'attività secretoria della mammella dipende da un complesso ormonale lattogeno elaborato dall'ipofisi. Esso interviene dopo la scomparsa quasi completa della follicolina e del progesterone. Gli ormoni che possiedono una attività lattogena dimostrata sono:

- prolattina,
- ormone della crescita, HCH,
- ormone placentario lattogeno, HPL.

Questi tre ormoni presentano delle strette analogie biologiche e biochimiche. È accertato che un riflesso nervoso con punto di partenza mammario stimoli la secrezione degli ormoni lattogeni attraverso l'ipofisi, ciò permette il mantenimento della lattazione, fino ad una nuova gestazione modificando l'equilibrio ormonale. Il latte viene secreto nell'intervallo fra le mungiture e la secrezione si arresta quando la pressione raggiunge un valore dell'ordine di 40 mm di mercurio all'interno della mammella (Alais, 1988).

### 2. Eiezione

Gli acini sono tappezzati da cellule mioepiteliali. Un ormone postipofisario, l'ossitocina, provoca la contrazione di queste cellule, inducendo così l'allontanamento del latte verso i condotti e la cisterna provocando quindi l'innalzamento della pressione

intramammaria. La mungitura non può essere completa in assenza dell'ossitocina. Lo svuotamento puramente meccanico estrae solo il latte dalla cisterna e dai grossi canali e nel caso del latte di vaccino, questo rappresenta il 30% del totale, infatti l'altro 70% si trova nel tessuto ghiandolare (fig.2) (Succi, 2005).

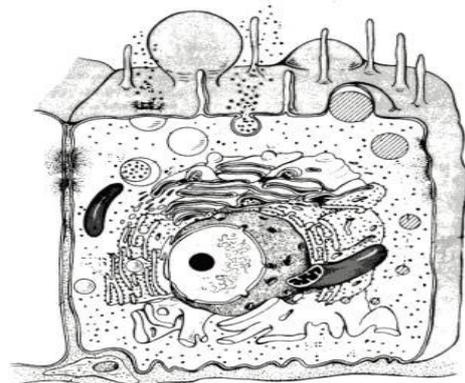
La secrezione dell'ossitocina, ormone che permette l'eiezione del latte, ha origine da un riflesso nervoso con punto di partenza mammario. Il riflesso dell'eiezione dipende, da una parte, dall'esistenza di stimoli favorevoli e dall'altra, dall'assenza di stimoli inibitori.

I riflessi che agiscono sui muscoli della mammella, sono di origine condizionata, causati da eventi esterni che agiscono sui sensi dell'animale, o da stimoli di natura nervosa provocati dal massaggio della ghiandola mammaria; tali riflessi hanno un'azione molto rapida, quantificabile dai 10 – 15 secondi tra causa ed effetto (Succi, 2005). Gli stimoli inibitori sono forniti da emozioni occasionali o da ogni modificazione dell'ambiente circostante. Si può trattare di un'inibizione dello scarico di ossitocina (azione della corteccia cerebrale), o della formazione di adrenalina; questa, provocando un'intensa costrizione dei vasi mammari, impedisce l'arrivo dell'ossitocina a contatto con le cellule mioepiteliali. L'evacuazione del latte dipende dall'orifizio del capezzolo (Alais, 1988).

### I.1.3 SINTESI DEL LATTE

Le cellule alveolari secretorie della ghiandola mammaria hanno una notevole attività metabolica (fig.3). I precursori vengono trasportati attraverso la membrana basale cellulare, il nucleo provvede alla sintesi di RNA-messaggero e RNA-ribosomiale. Il reticolo endoplasmatico ha un sistema di canali che dal nucleo pervade tutto il citoplasma e provvede alla sintesi delle proteine e dei fosfolipidi, alla esterificazione degli acidi grassi per la formazione degli acilgliceroli e alla loro dissaturazione. L'apparato del Golgi sintetizza il lattosio, in esso avviene la glicolisi e la fosforilazione delle proteine. I mitocondri producono energia sotto forma di (ATP) e sono deputati alla formazione dei precursori degli acidi grassi e degli aminoacidi non essenziali.

**Fig.3 Rappresentazione schematica di una cellula dell'epitelio secretorio di una ghiandola mammaria.**



Fonte:[http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\\_del\\_latte.htm](http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi_del_latte.htm)

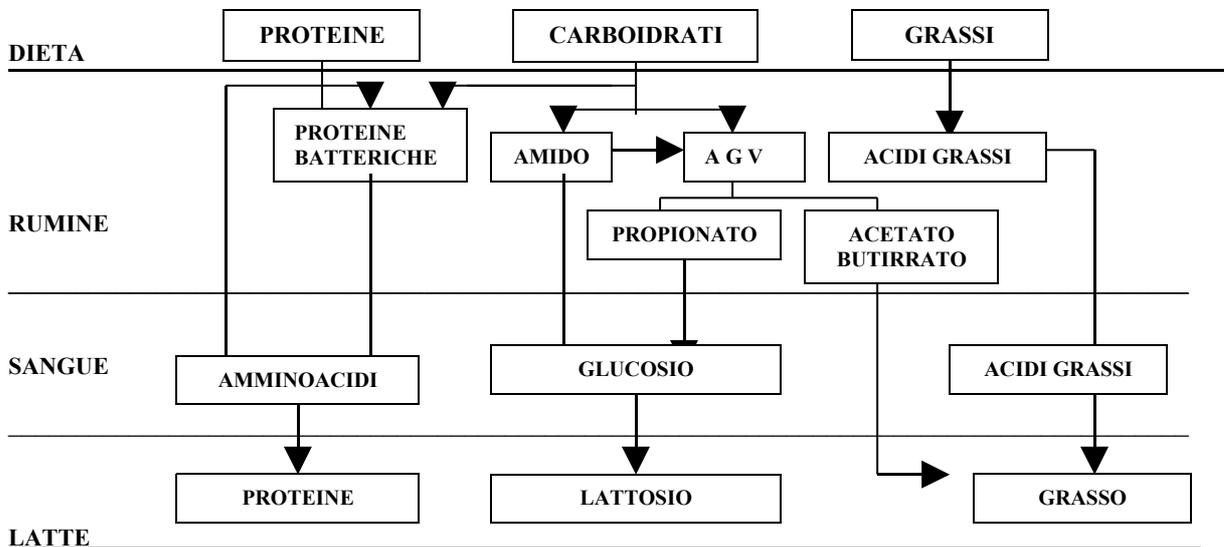
Nel citoplasma avviene la formazione del  $\alpha$ -glicerofosfato, la sintesi degli acidi grassi, l'attivazione degli aminoacidi per la sintesi proteica e la produzione del NADPH. La membrana con la sua permeabilità influenza il passaggio delle molecole, degli elettroliti e dell'acqua in entrata ed in uscita dalla cellula e nei medesimi organuli citoplasmatici. Il glucosio contrariamente al lattosio attraversa la membrana del Golgi. Il flusso mammario nei soggetti in piena lattazione raggiunge il 15% della gittata cardiaca (Beghelli, 1998). I principali substrati ematici utilizzati nella mammella sono il glucosio, gli acidi grassi, sali minerali e acido acetico (tab.2). La bovina utilizza l'acido acetico come fonte energetica.

**Tab. 2** Costituenti del sangue e del latte bovino.

<b>COSTITUENTI</b>	<b>SANGUE (G/DL)</b>	<b>LATTE (G/DL)</b>
<b>Acqua</b>	<b>91</b>	<b>86</b>
<b>Glucosio</b>	<b>0,05</b>	<b>Tr</b>
<b>Lattosio</b>	<b>0</b>	<b>4,6</b>
<b>Aminoacidi liberi</b>	<b>0,02</b>	<b>Tr</b>
<b>Caseine</b>	<b>0</b>	<b>2,8</b>
<b><math>\beta</math>-lattoglobulina</b>	<b>0</b>	<b>0,32</b>
<b><math>\alpha</math>-lattoalbumina</b>	<b>0</b>	<b>0,13</b>
<b>Immunoglobuline</b>	<b>2,6</b>	<b>0,07</b>
<b>Albumina</b>	<b>3,2</b>	<b>0,05</b>
<b>Triacilgliceridi</b>	<b>0,06</b>	<b>3,7</b>
<b>Fosfolipidi</b>	<b>0,25</b>	<b>0,035</b>
<b>Acido citrico</b>	<b>tr</b>	<b>0,18</b>
<b>Acido orotico</b>	<b>0</b>	<b>0,008</b>
<b>Calcio</b>	<b>0,01</b>	<b>0,13</b>
<b>Fosforo</b>	<b>0,01</b>	<b>0,10</b>
<b>Sodio</b>	<b>0,34</b>	<b>0,05</b>
<b>Potassio</b>	<b>0,025</b>	<b>0,15</b>
<b>Cloro</b>	<b>0,35</b>	<b>0,11</b>

Tr = tracce (Beghelli, 1998)

**Fig. 4** Passaggi nella conversione dei componenti della dieta in componenti del latte



### Biosintesi del grasso

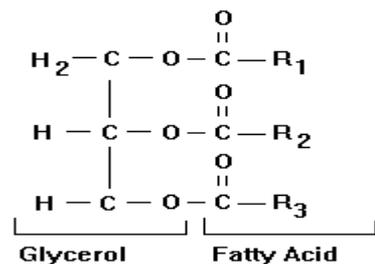
I grassi presenti nel latte forniscono la quota maggiore di energia per il neonato, sono secreti sotto forma di globuli compresi in una membrana che li rende compatibili alla fase acquosa del latte. I grassi sono la maggior componente del latte e sono composti prevalentemente da trigliceridi ( 97-98 %) (fig.5). Il latte di vacca contiene circa l'1 % di altri grassi (0,28-0,59% di diacilgliceridi, 0,21% fosfolipidi 0,02-0,04% di monoacilgliceridi).

**Fig. 5** Formula generale dei trigliceridi

Fonte:  
[http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\\_latte.htm](http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi_latte.htm)

R1, R2 e R3 possono essere Acidi grassi con catene carboniose di varia lunghezza.

**GENERAL FORM OF A TRIGLYCERIDE**



Circa il 50 % del grasso deriva direttamente dai grassi a lunga catena assunti dall'animale con la dieta, dalle sintesi ruminali e dai lipidi di riserva corporea (tab3). Il rimanente 50% deriva dalla neosintesi a partire dagli acidi grassi volatili ac. acetico e idrossi-butirrato prodotti dalle fermentazioni ruminali.

**Tab. 3 Sorgente degli acidi grassi nella vacca**

ACIDO GRASSO	NEOSINTESI %	VDLH (VERY LOW DENSITY LIPOPROTEIN)
C4- C10	100	0
C12	80-90	10- 20
C14	30-40	60-70
C16	20-30	70-80
C18 stearico	0	100

**Tab. 4 Composizione degli acidi grassi del latte di specie diverse**

ACIDI GRASSI (%) MOLARE		BOVINO	PECORA	CAPRA
C4:0	Butirrico	10	8	8
C6:0	Capraico	3	5	5
C8:0	Caprilico	1	4	4
C10:0	Caprico	2	6	13
C12:0	Laurico	3	5	7
C14:0	Miristico	9	12	12
C16:0	Palmitico	21	22	24
C18:0	Stearico	11	10	12
C18:1	Oleico	31	22	17
C18:2	Linoleico	5	4	3
C18:3	Linolenico	<1	<1	<1

La maggior parte degli acidi grassi di origine vegetale della dieta, sono a lunga catena ed insaturi. I microrganismi ruminali hanno la capacità di renderli saturi e ciò spiega l'alto tenore di acidi grassi saturi presenti nel latte di vacca. Gli acidi grassi a lunga catena vengono assorbiti dall'intestino, legati alle proteine e vengono messi in circolo attraverso il sistema linfatico. Nel sangue vi sono 100mg/l di lipoproteine circa, per la maggior parte HDL (High Density Lipoprotein) 92%, mentre di LDL (Low Density Lipoprotein) solo il 7%. Circa il 60-80 % dei trigliceridi è rimosso dalle lipoproteine ad opera di un enzima di membrana (lipoprotein-lipasi) ed assorbito dalla cellula mammaria.

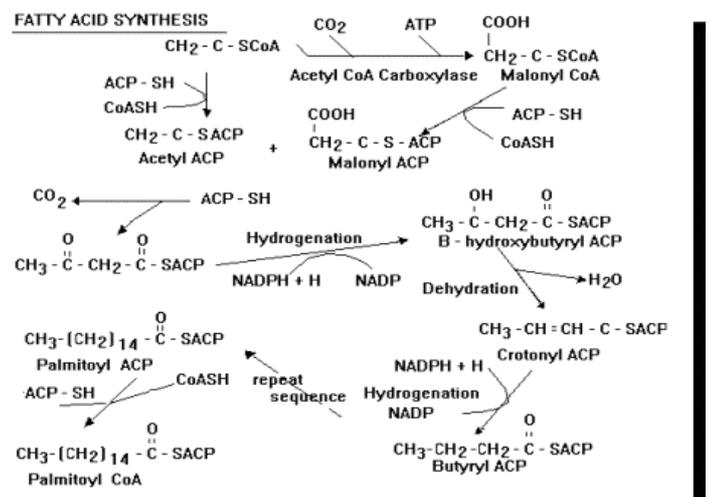
### I.1.4 NEOSINTESI DEGLI ACIDI GRASSI

La neosintesi degli acidi grassi, coinvolge l'acetilcolina a partire dall'acido acetico utilizzato come substrato per la sintesi della malonilcolina, necessario per la formazione di lunghe catene e per l'approvvigionamento del NADPH, indispensabile per le fasi di riduzione della reazione. Il glucosio, nei non ruminanti è la fonte principale per l'acetilcolina e il NADP, inoltre fornisce lo scheletro carbonioso per la sintesi dei trigliceridi. Il glucosio nei mitocondri è degradato a piruvato e convertito in acetilcolina, quest'ultimo non si diffonde fuori dalla membrana mitocondriale e pertanto viene trasformato in ossaloacetato che può rapidamente diffondersi nel citoplasma dove si libera l'acetilcolina. Il NADPH nei non ruminanti, deriva dalla via del pentoso-fosfato, dal ciclo del piruvato/malato e dalla isocitrato deidrogenasi. Nei ruminanti il glucosio non è utilizzato per la sintesi degli AGV (acidi grassi volatili) e l'attività dell'ATP citrato-liasi è bassa, infatti piccole quantità di acetilcolina derivano dal citrato extramitocondriale. Il ciclo del piruvato/malato è adeguatamente presente nei tessuti. L'attività dell'acetilcolina sintetasi nei ruminanti in genere è maggiore e fornisce quantità adeguate di acetilcolina a partire dall'acido acetico derivato dalla fermentazione ruminale. Il primo passaggio della sintesi degli acidi grassi è la conversione dell'acetilcolina in malonilcolina per mezzo dell'enzima (acetil-CoA) carbossilasi. L'allungamento della catena richiede più molecole di acetilcolina attivato a malonilcolina, questa reazione è catalizzata da una sintetasi. Il palmitato (C16) è il principale prodotto della neosintesi degli acidi grassi, mentre l'acido acetico provvede al 35-45 % del carbonio degli acidi grassi totali del latte e circa l'80% della neosintesi. Il  $\beta$ -idrossibutirrato entra direttamente nella composizione dei trigliceridi del latte come butirrilcolina (butirril-CoA) (C4) o convertito ad acetilcolina nei mitocondri. Il  $\beta$ -idrossibutirrato provvede a circa l'8% dei grassi totali e il 16-20 % della neosintesi dei grassi a catena corta (fig.6).

Fig. 6 Sintesi degli acidi grassi

Fonte

[http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\\_del\\_latte.htm](http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi_del_latte.htm)

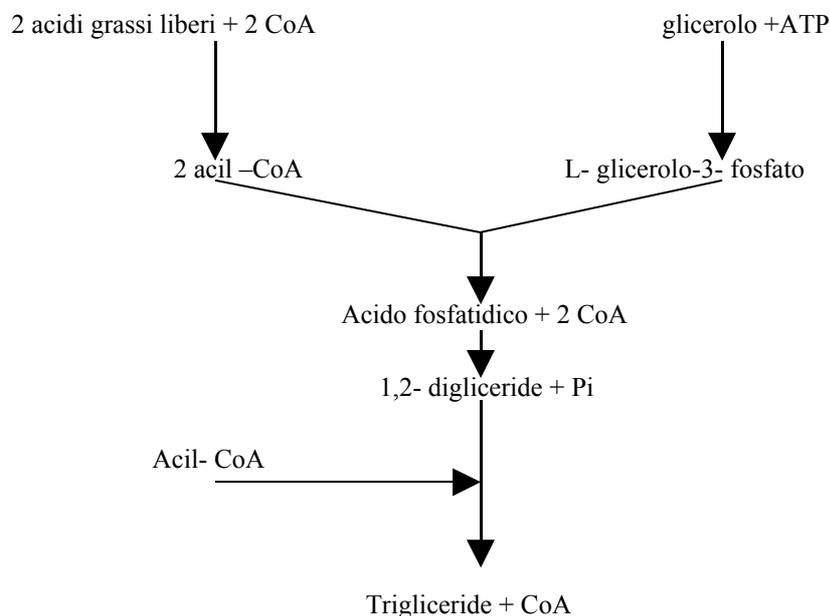


Gli acidi grassi presenti nei trigliceridi del latte hanno tre fonti principali di origine:

- dal glucosio che con la glicolisi diviene acido piruvico, entra nel ciclo dell'acido citrico con formazione di acetilcolina, ma non nei ruminanti,
- dai trigliceridi presenti nel circolo ematico come lipoproteine a bassa densità VDLh,
- per i ruminanti la fonte maggiore è la sintesi a partire dall'acetato e dal butirrato che derivano dall'attività microbica ruminale.

La biosintesi dei trigliceridi avviene preferibilmente tramite la via del  $\alpha$  3 glicero-fosfato (fig.7). Nei ruminanti la quantità del glicerolo derivante dallo zucchero è il 60%. Gli acidi grassi liberi vengono attivati nella via dell' $\alpha$ - fosfoglicerato per formare una catena di acetilcolina, dalla reazione con due molecole  $\alpha$ - 3 fosfoglicerato si forma acido fosfatidico il quale, dopo la rimozione del (P), dà vita al 1,2 diacilglicerolo, con l'aggiunta di un'altra molecola di acetilcolina si ha il triacilglicerolo. Qui vengono aggiunti i tre acidi grassi per formare i trigliceridi.

**Fig.7 Schema generale per la formazione dei trigliceridi nel latte**

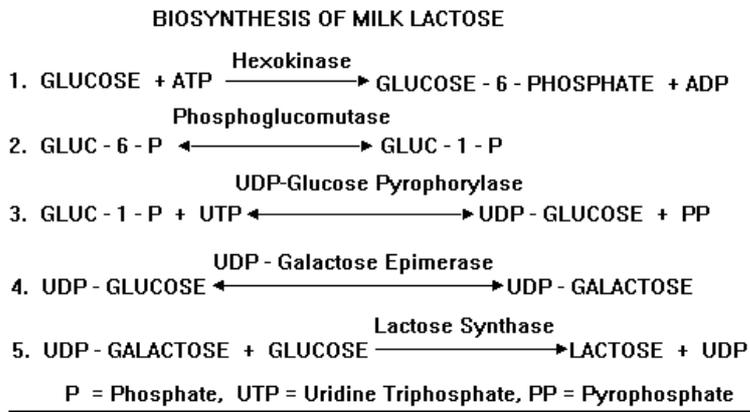
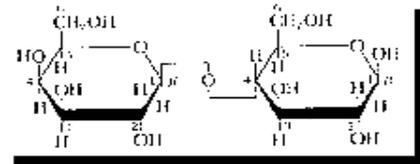


### 1.1.5 BIOSINTESI DEL LATTOSIO

Il lattosio del latte è sintetizzato solo nella ghiandola mammaria. Esso è costituito da una molecola di glucosio e una di galattosio con legame  $\beta$  tra il carbonio 1 del galattosio e 4 del glucosio (fig.8).

**Fig. 8 Rappresentazione chimica del lattosio**

Fonte  
[http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\\_del\\_latte.htm](http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi_del_latte.htm)



**Fig. 9 Biosintesi del lattosio del latte**

Fonte [http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\\_del\\_latte.htm](http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi_del_latte.htm)

La prima reazione è irreversibile ed avviene nel citoplasma (fig.9). Mentre la seconda, la terza e la quarta reazione sono in equilibrio, sono reversibili e dipendono dalle concentrazioni del precursore e dal prodotto finale. La quinta reazione avviene nell'apparato del Golgi ed è richiesta la presenza di ioni Mg. Il glucosio e UDP galattosio sono trasportati all'interno dell'apparato del Golgi e sono attivati a lattosio. L'enzima necessario è la lattosintetasi, composta da due proteine, la galattosil- transferasi legata alla membrana del Golgi e l' $\alpha$  lattoalbumina libera. Il vantaggio del lattosio rispetto al monosaccaride si ritiene che sia dovuta al fatto che dà il doppio di potere calorico e di esercitare metà della pressione osmotica di un monosaccaride a parità di peso molecolare. Nella ghiandola mammaria dei ruminanti il glucosio per un 65-75% deriva dal circolo ematico.

### I.1.6 BIOSINTESI DELLE PROTEINE

I precursori delle proteine sono gli aminoacidi che provenendo dalle proteine alimentari degradate nell'intestino, attraverso il passaggio nella ghiandola mammaria vanno a formare le proteine del latte (fig.10). Uno schema generale per la sintesi delle proteine del latte prevede:

- passaggio dei precursori (aminoacidi) dal sangue al liquido extracellulare,
- assunzione cellulare di aminoacidi con dei carrier specifici per gruppi di aminoacidi con richiesta di energia,

- attivazione del sistema di trascrizione in RNAm dei geni che codificano la sintesi del latte,
- RNAm trasporta l'informazione dal nucleo ai ribosomi dell'ergastoplasma,
- a questo livello gli aminoacidi vengono attivati in presenza di ATP, formando dei composti aminoacil-RNAt specifici per singolo aminoacido,
- le proteine traslocano verso la membrana apicale e tale processo coinvolge l'apparato del Golgi,
- passaggio delle proteine attraverso la membrana per pinocitosi inversa.

Protein fractions in Milk	
Fraction	Approx. % of protein
$\alpha_s$ -Casein	45 - 55
K-Casein	8 - 15
$\beta$ -Casein	25 - 35
$\gamma$ -Casein	3 - 7
$\alpha$ -Lactalbumen	2 - 5
$\beta$ -lactoglobulin	7 - 12
Blood Serum Albumen	.7 - 1.3
IgG Immunoglobulin	
IgG1	1 - 2
IgG2	.2 - 0.5
IgM Immunoglobulin	.1 - 0.2
IgA Immunoglobulin	.05 - 0.1
Proteose-peptone fraction	2 - 5

**Fig. 10 Frazione proteica nel latte**

<http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/.htm>

#### I.1.7 VALORI DEI PRINCIPALI INDICI CHIMICO-FISICI DEL LATTE (Tab. 5) (Corradini, 1995)

<b>PH</b>		6,5-6,7
<b>Acidità di titolazione</b>		6-8 °SH 14-18 °D 0,14-0,18 g/100 ml di acido lattico
<b>Densità a 20°C</b>	latte intero	1,030-1,033 g/ml
	latte scremato	1,035-1,036 g/ml
	Siero	1,025-1,029 g/ml
<b>Residuo secco magro (valori minimi di legge)</b>	latte intero	8,50 g/100g
	latte scremato	8,70 g/100g
<b>Punto di congelamento (valori indicativi medi)</b>		-0,530-0,54 °C
<b>Punto di ebollizione</b>		100,15-100,17 °C
<b>Potenziale redox</b>		+0,20-0,30 Volt
<b>Calore specifico (da 14,5 a 15,5 °C)</b>		0,94 cal/g °C
<b>Tensione superficiale</b>	latte intero	47-53 dine/cm <sup>2</sup>
	latte scremato	52-57 dine/cm <sup>2</sup>
<b>Viscosità</b>		2,2 centipoise a 20°C

## **I.2 CARATTERISTICHE MICROBIOLOGICHE**

I parametri più importanti, indici della qualità igienica del latte crudo, sono:

- livello di cellule somatiche;
- livello di carica batterica.

### **I.2.1 CELLULE SOMATICHE**

Le cellule somatiche sono componenti naturalmente presenti nel latte, provengono dal sangue e dalla linfa (Bastasin, 1991).

Quando una vacca è sana, ben alimentata, la mungitura e la stabulazione sono idonee, il latte contiene tra 140.000 e 250.000 cellule somatiche per ml. Circa il 30% di queste cellule è costituito da leucociti. La ricerca analitica di questa componente cellulare è di duplice utilità: ha un significato diagnostico, perché segnala eventuali turbe della secrezione mammaria, come ad esempio nel caso della mastite, mentre dal punto di vista della tecnologia casearia, un latte con un numero elevato di cellule causa una resa inferiore di formaggio ed effetti negativi sulla qualità dei formaggi a lunga stagionatura a causa dell'azione delle proteasi leucocitarie (rilasciate in seguito a processi di autolisi) sulle frazioni della caseina (Bastasin, 1991).

Nelle turbe della secrezione mammaria, il numero delle cellule somatiche aumenta ed in particolare aumenta la frazione leucocitaria, fino a superare a volte, il 60% (Bastasin, 1991). Un elevato livello di cellule somatiche è frequentemente accompagnato da alti livelli di carica batterica che contribuiscono allo scadimento della qualità del latte. La prevenzione delle mastiti permette di ottenere due sostanziali risultati:

- miglioramento qualitativo del latte;
- maggiore rendimento alla stalla.

### **I.2.2 MICRORGANISMI**

La maggior parte dei microrganismi prolifera a temperature medie superiori o uguali a 20 °C.

In funzione dell'effetto della temperatura sulla crescita si distinguono microrganismi:

- mesofili: si moltiplicano a temperature da + 20 a 45 °C, con un optimum a 37°C. Il loro tasso di crescita è elevato e la durata della proliferazione relativamente breve. Si ritrovano negli alimenti conservati a temperatura ambiente o nei refrigerati quando si abbia un'interruzione della catena del freddo;

- termofili: sono capaci di proliferare a temperature alte, da +45 a 65°C, con un optimum di 55°C. Si caratterizzano per il tasso di crescita molto alto, ma dalla breve durata. Si trovano nell'acqua, nell'aria e nel terreno. In campo alimentare sono rappresentati specialmente dai generi batterici *Bacillus* e *Clostridium*. All'interno dei termofili vi sono i termotrofi, che sono dei mesofili suscettibili a svilupparsi a temperature elevate come *Streptococcus faecalis* che cresce anche a 50°C;
- psicrofili e psicrotrofi: i primi sono veramente adattati al freddo e si trovano poco nell'ambiente alimentare. Più conosciuti sono gli psicrotrofi, capaci di adattarsi a temperature prossime a 0°C, ma che hanno un optimum a 25-35°C. Sono caratterizzati da un metabolismo lento e sono poco competitivi con gli altri microrganismi quando la temperatura aumenta. Gli psicrotrofi sono dominanti in tutte le derrate alimentari refrigerate e i maggiori generi sono: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Lactobacillus* o *Streptomyces*. Il loro tempo di generazione è di 24 ore a 0°C (Bourgeois 1990).

Per i microrganismi che possono essere presenti nel latte, occorre ricordare che il latte è un ottimo terreno di coltura per i batteri data la composizione particolare, presenta sostanze nutritive facilmente disponibili e in soluzione acquosa (Bastasin, 1991).

I microrganismi presenti si possono dividere in due gruppi:

- microrganismi saprofiti, non patogeni quali *Lattobacilli*, *Streptococchi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*;
- microrganismi patogeni agenti della TBC bovina, della difterite del colera, del tifo, della brucellosi.

Il latte può essere contaminato a causa dell'animale malato che trasmette i propri germi patogeni durante la sua produzione, ma anche attraverso il passaggio nel canale del capezzolo se l'affezione è localizzata nella mammella. Oltre a questa via di contaminazione endogena, il latte può essere contaminato attraverso il contatto con la pelle dell'animale, con i recipienti e gli strumenti per la sua raccolta, dall'ambiente, con il foraggio, il personale addetto e gli strumenti usati per la refrigerazione ed il trasporto. In questi casi si parlerà di contaminazione esogena (Bastasin, 1991).

Il latte prodotto in buone condizioni igieniche è caratterizzato da una carica batterica totale di circa  $10^4$  ufc/ml. Le fonti di contaminazioni esterne, se ben gestite, possono contribuire per altri  $2 \cdot 10^4$  ufc/ml. In totale il latte prodotto in condizioni igieniche ottimali dovrebbe essere caratterizzato da una carica batterica totale inferiore a  $5 \cdot 10^4$  ufc/ml.

## PARTE SECONDA

### II.1 SCOPI DEL LAVORO DI DOTTORATO

Negli ultimi dieci anni il settore del latte alimentare ha visto accrescere sempre di più l'attenzione dei consumatori, dei produttori e del legislatore comunitario ed italiano.

In questi anni la normativa orizzontale ha subito un radicale cambiamento, dapprima con il D.L. 26 maggio 1997, n°155, seguito dal REG. (CE) 28 gennaio 2002 n. 178 e per concludere con i Regolamenti che afferiscono al così detto "Pacchetto igiene" (Reg.CE 852, 853, 854, 882/2004, e Dir. 2002/99).

Anche la normativa verticale ha subito diversi cambiamenti. Nel 1997 è stato emanato il D.P.R. del 15 gennaio 1997 n°54 che si è affiancato alle Legge n.169 del 1989, seguito poi da una serie di Decreti, Leggi, Decreti Legge che intervenivano ogni volta su un aspetto specifico del settore: rintracciabilità, etichettatura, nuove opportunità tecnologiche ed altro.

Attualmente buona parte della normativa citata è abrogata o in fase di coesistenza, in particolare a causa del "pacchetto igiene".

Questo dimostra un grande interesse verso questo settore, anche se: la necessità di creare una normativa orizzontale valida per più filiere; gli interessi di alcune parti piuttosto che altre; l'interesse comunitario a preoccuparsi prevalentemente dei risvolti igienico sanitari piuttosto che degli altri aspetti della qualità; la complessità del settore, hanno creato un po' di confusione sicuramente tra i consumatori (italiani in particolare, più esigenti di altri) e anche tra i produttori meno preparati. Abbiamo vissuto questi cambiamenti soprattutto nel settore dei lattini a "breve" conservazione (pastorizzati, alto pastorizzato e microfiltrato), in quanto su quello a lunga conservazione ormai da tempo è stata raggiunta una certa maturità, ed inoltre, è quello che permette di spuntare i maggiori profitti.

Si è assistito a veri scontri tra grandi gruppi, dismissione delle "municipalizzate", acquisizioni e fallimenti di grandi gruppi.

Premesso questo, con il presente lavoro di ricerca, si è voluto:

- fare una panoramica sul settore del latte alimentare, iniziando dallo stato dell'arte, proseguendo con i cambiamenti delle esigenze dei consumatori e cosa hanno fatto i produttori ed i legislatori per andare incontro a queste;
- effettuare diverse prove per la valutazione della "shelf life" dei seguenti lattini alimentari: fresco pastorizzato, fresco pastorizzato di alta qualità, alto pastorizzato,

microfiltrato, UHT, con la molteplice finalità di: verificare quali sono i parametri più idonei per valutarne lo stato di conservazione, verificare la possibilità di individuare nuovi tempi di conservazione (il presente lavoro di tesi è iniziato prima del Decreto MiPAF/MAP/Min. Salute del 24 Luglio 2003 che stabiliva in 6 giorni più quello del trattamento termico, la durata legale del latte fresco pastorizzato e del latte fresco pastorizzato di alta qualità, e già si preconizzava questa scelta), verificare la possibilità di suggerire una strategia legislativa/merceologica semplificata e meno contraddittoria di quella attualmente in vigore;

- confrontare le metodiche Kjeldahl e Dumas per la determinazione del contenuto di azoto, con l'obiettivo di valutare singolarmente le due metodiche analitiche ed operare un confronto diretto. Il metodo ufficiale Kjeldahl è ampiamente diffuso in moltissimi laboratori, ma presenta tempi di analisi molto lunghi e l'impiego di materiali tossici ed inquinanti. Strumentazioni automatiche che si basano sul principio del metodo Dumas consentono analisi rapide ed economiche senza utilizzo di materiali pericolosi per la salute dell'uomo e dell'ambiente. Questi ed altri vantaggi emersi da studi effettuati per diversi prodotti alimentari (Carunchio, 2001) ci hanno spinto ad effettuare studi di applicabilità di entrambe le metodiche;
- contribuire a risolvere il problema di off-flavours riscontrato in latte UHT di una Cooperativa di produttori di latte del centro Italia;
- mettere a punto un sistema di rintracciabilità per il latte fresco, in relazione con il sistema HACCP;
- applicare suddetto sistema c/o una cooperativa del centro Italia che produce latte alimentare fresco intero e parzialmente scremato al fine di valutarne l'applicabilità e l'efficacia.

	Ricerca bibliografica	Studio Legislazione	Prove analitiche finalizzate alla messa a punto di nuovi metodi	Prove analitiche e microbiologiche per la valutazione della S.L.	Messa a punto e Implem. Sistemi
Legislazione	X	X			
Shelf-life	X	X	X	X	
L. Pastorizzato	X	X	X	X	X
L. P. Alta Qualità	X	X	X	X	
L. Alto Pastoriz.	X	X	X	X	
L. microfiltrato	X	X	X	X	
Latte UHT	X	X	X		
Confronto metodi	X	X	X		
Rintracciabilità	X	X			X

Tab. 1 Sintesi del lavoro di ricerca

## II.2 RIFERIMENTI NORMATIVI

### II.2.1 ESCURSUS NORMATIVO NEL SETTORE DEL LATTE

Il latte pastorizzato deve corrispondere alle caratteristiche previste dalla legge n° 169 del 1989 ed al D.P.R. n° 54 del 1997. Queste disciplinano il trattamento, la distribuzione e la denominazione dei diversi tipi di latte alimentare e stabiliscono i requisiti affinché un latte si possa definire “pastorizzato”, “fresco pastorizzato”, “fresco pastorizzato di alta qualità”, individuando, rispettivamente, i valori di 11%, 14% e 15,5% di proteine del siero solubili sulle proteine totali non denaturate dal trattamento termico di pastorizzazione come parametro discriminante. Hanno tutti e tre la caratteristica comune di essere sicuri dal punto di vista igienico (fosfatasi alcalina negativa), però hanno delle differenze dal punto di vista nutrizionale a seconda dell'entità del trattamento termico subito. I componenti più sensibili sono proprio le proteine del siero ed è per questo che sono state prese come riferimento.

Inoltre il latte “fresco pastorizzato” e “fresco pastorizzato di alta qualità” devono avere perossidasi positiva, a riprova di non avere subito un trattamento termico eccessivamente drastico. Spesso il latte arriva alla centrale con una carica microbica elevata che rende necessario un trattamento termico drastico per risanare il carico inquinante. È necessario quindi, per ottenere un latte di qualità, dal punto di vista nutrizionale ed organolettico, oltre a quello microbiologico, ridurre la carica microbica del latte crudo in partenza.

Le principali normative italiane ed europee che disciplinano ogni fase della filiera produttiva del latte sono le seguenti:

	<b>NORMATIVA</b>	<b>FONTE</b>	<b>OGGETTO</b>
1	R.D. del 9 maggio 1929, n° 994	GURegnoI	Regolamento sulla vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto.
2	L. del 30 aprile 1962, n°283	G.U.R.I	Disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande.
3	D.P.R. 26 marzo 1980, n°327	G.U.R.I	Regolamento di esecuzione della Legge 30/04/62 in materia di disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande.
4	Reg. n°1411/71/C.E.E.	G.U.C.E.	Disposizioni complementari dell'organizzazione comune dei mercati, nel settore dei prodotti lattiero-caseari, per il latte destinato al consumo umano.
5	L. del 3 maggio 1989 n°169	G.U.R.I	Disciplina del trattamento e della commercializzazione del latte alimentare vaccino.
6	D.M. 9 maggio 1991, n°184	G.U.R.I	Regolamento concernente le condizioni di produzione zootecnica, i requisiti di composizione ed igienico-sanitari del latte crudo destinato alla utilizzazione per la produzione di latte alimentare trattato termicamente.

	<b>NORMATIVA</b>	<b>FONTE</b>	<b>OGGETTO</b>
7	D.M. 9 maggio 1991, n°185	G.U.R.I	Regolamento concernente le condizioni di produzione zootecnica, i requisiti di composizione ed igienico-sanitari del latte crudo destinato alla utilizzazione per la produzione di "latte fresco pastorizzato di alta qualità".
8	D.M. del 26 marzo 1992	G.U.R.I	Attuazione della decisione n.91/180/Cee concernente la fissazione di metodi e analisi prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente.
9	DEC. del Consiglio (92/608/CEE)	G.U.C.E.	Stabilisce metodi di analisi e di prova del latte trattato termicamente, destinato al consumo umano diretto.
10	DIR. del Consiglio (94/71/CE)	G.U.C.E.	Modifica la direttiva 92/46/CEE che stabilisce le norme sanitarie per la prod. e la commercializzazione di latte crudo, di latte trattato termicamente e di prodotti a base di latte.
11	DIR. del Consiglio (96/16/CE)	G.U.C.E.	Relativa alle indagini da effettuare nel settore del latte e dei prodotti lattiero-caseari.
12	REG. (CE) n°1081/96 della Commissione del 14 giugno '96	G.U.R.I	Definisce un metodo di riferimento per rivelare la presenza di caseinato e di latte vaccini nei formaggi prodotti con latte di pecora, con latte di capra o con latte di bufala o con miscele di tali latti
13	DEC. della Commissione del 29 luglio 1996 (96/536/CE)	G.U.C.E.	Stabilisce l'elenco dei prodotti a base di latte per i quali gli Stati membri sono autorizzati a concedere deroghe individuali o generali della direttiva 92/46/CEE, nonché la natura delle deroghe applicabili alla fabbricazione di tali prodotti.
15	D.P.R. del 15 gennaio 1997 n°54	G.U.R.I	Regolamento recante attuazione delle direttive 92/46 e 92/47/CEE in materia di produzione e immissione sul mercato di latte e di prodotti a base di latte.
16	DEC. della Commissione del 25 aprile 1997 (97/284/CE)	G.U.C.E.	Sostituisce la decisione 96/536/CE che stabilisce l'elenco dei prodotti a base di latte per i quali gli Stati membri sono autorizzati a richiedere deroghe individuali o generali ai sensi della direttiva 92/46/CEE, nonché la natura delle deroghe applicabili
17	REG. (CE) n° 2597/97 del Consiglio del 18 dicembre 1997	G.U.C.E.	Disposizioni supplementari OCM settore latte e prodotti lattierocaseari per quanto riguarda il latte alimentare.
18	D.L. 26 maggio 1997, n°155	G.U.R.I	Attuazione delle direttive 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l'igiene dei prodotti alimentari.
19	D.L. 26 maggio 1997, n°156	G.U.R.I	Attuazione della direttiva 93/99/CEE concernente misure supplementari in merito al controllo ufficiale dei prodotti alimentari.
20	CIRC. MAP 2/8/2001 n° 167	G.U.R.I	Etichettatura e presentazione di prodotti alimentari
21	DIRETTIVA 2000/13/CE	G.U.C.E.	Ravvicinamento della legislazione dei paesi membri concernenti l' etichettatura, presentazione e della pubblicità dei prodotti alimentari.
22	REGOLAMENTO (CE) 28 gennaio 2002, n. 178	G.U.C.E.	Principi e requisiti fondamentali della legislazione alimentare, Autorità europea per la sicurezza alimentare, procedure nel campo della sicurezza alimentare
23	DECR. Min. della Salute/Mipaf del 17 Giugno 2002 n°178	G.U.R.I	Attuazione della direttiva 2000/36/CE relativa ai prodotti di cacao e di cioccolato destinati all'alimentazione umana.
24	DECRETO legislativo del 23 Giugno 2003 n° 181	G.U.R.I	Attuazione della direttiva 2000/13/CE concernente l'etichettatura e la presentazione dei prodotti alimentari, nonché la relativa pubblicità
25	DECR. Mipaf/MAP/Min. Salute del 24 Luglio 2003	G.U.R.I	Determinazione della scadenza del latte fresco pastorizzato e del latte fresco pastorizzato di alta qualità

	<b>NORMATIVA</b>	<b>FONTE</b>	<b>OGGETTO</b>
26	DECRETO Mipaf/MAP del 24 Luglio 2003	G.U.R.I	Disciplina del sistema di rintracciabilità del latte al fine di assicurare la più ampia tutela degli interessi del consumatore
27	DIRETTIVA 2004/41/CE del 21 aprile 2004	G.U.C.E.	Abroga alcune Direttive recanti norme sull'igiene dei prodotti alimentari.
28	REGOLAMENTO (CE) 29 aprile 2004, n. 852	G.U.C.E.	Igiene dei prodotti alimentari.
29	REGOLAMENTO (CE) 29 aprile 2004, n. 853	G.U.C.E.	Stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale.
30	REGOLAMENTO (CE) 29 aprile 2004, n. 854	G.U.C.E.	Stabilisce norme per l'organizzazione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano.
31	REGOLAMENTO (CE) 29 aprile 2004, n. 882	G.U.C.E.	Relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti.
32	DECR. MAP 27 maggio 2004	G.U.R.I	Rintracciabilità data di scadenza del latte fresco.
33	LEGGE 3 agosto 2004, n.204	G.U.R.I	Disposizioni urgenti per l'etichettatura di alcuni prodotti agroalimentari, nonché in materia di agricoltura e pesca
34	DECRETO MIPAF 14 gennaio 2005	G.U.R.I	Linee guida per la stesura del manuale aziendale per la rintracciabilità del latte.
35	D.Lgs 5 aprile 2006, n° 190	G.U.R.I	Sanzioni in merito al Reg.(CE) n°178/2002.

Per il latte alimentare destinato al consumo umano diretto, la normativa vigente comprende diverse Leggi e Decreti, che ne disciplinano ogni fase, dalla produzione alla commercializzazione.

L'alimento latte è trattato per la prima volta in modo organico nel Diritto Alimentare, nel RD 9-5-1929 n. 994 "Regolamento sulla vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto". Questo è un testo onnicomprensivo che disciplina:

- i locali di ricovero degli animali;
- gli animali lattiferi e la loro condizione sanitaria;
- il personale addetto agli animali ed alle latterie;
- i requisiti chimico-fisici del latte:
  - a) peso specifico fra 1,029 e 1,034 a 15°C,
  - b) grasso non inferiore al 3%,
  - c) residuo secco magro non inferiore al 9%,
- le varie operazioni di mungitura, filtrazione, refrigerazione, raccolta, trasporto;
- i locali addetti alla vendita del latte;
- l'istituzione delle Centrali del Latte, definite:

*speciali stabilimenti per la raccolta del latte locale, per il suo controllo, nonché per la sua pastorizzazione o altro trattamento atto ad assicurare la genuinità e la salubrità del prodotto (Zaghi, 1996).*

Nel 1962 è emanata la Legge n. 283/62 che disciplina la produzione e la vendita di prodotti alimentari e bevande; è una legge fondamentale nel Diritto Alimentare italiano poiché prevede che siano soggette a vigilanza per tutela della salute pubblica la produzione ed il commercio delle sostanze destinate all'alimentazione, tra le quali il latte (Fantino, 1991).

La Legge 283 è divenuta operativa solo nel 1980 con il DPR n. 327 del 26 marzo. In questo regolamento sono anticipate molte delle prescrizioni obbligatorie che successivamente hanno fatto parte di normative comunitarie.

Nel 1971 il Consiglio della CEE promulga il Reg. n. 1411/71/CEE concernente le disposizioni complementari dell'organizzazione comune dei mercati, nel settore del latte e dei prodotti lattiero-caseari, per il latte destinato al consumo umano. Questo Regolamento entrerà in vigore in Italia nel 1972 e 1976 tramite appositi Decreti (Fantino, 1991).

I punti più importanti della Normativa sono:

1) vengono ufficializzati i trattamenti termici ammessi quali

a) la pastorizzazione

b) la sterilizzazione.

2) dal trattamento di pastorizzazione si ottengono tre tipi di latte:

<b>A</b> Latte pastorizzato	fosfatasi negativa sieroproteine solubili non denaturate non <11%
<b>B</b> Latte fresco pastorizzato	fosfatasi negativa - sieroproteine solubili non denaturate non <14% perossidasi positiva
<b>C</b> Latte fresco pastorizzato di alta qualità	fosfatasi negativa - sieroproteine solubili non denaturate non <15,50% perossidasi positiva

3) Il trattamento termico di sterilizzazione è utilizzato per la produzione di:

- Latte sterilizzato a lunga conservazione	con scadenza a 180 gg.
- Latte UHT a lunga conservazione	con scadenza a 90 gg.

4) Il latte crudo destinato all'utilizzazione come latte alimentare trattato termicamente è regolamentato da appositi Decreti Ministeriali, che ne giudicano l'idoneità o meno in base ai requisiti di composizione (Fantino, 1991).

Nella normativa italiana la possibilità di produrre latte fresco pastorizzato di alta qualità è introdotta con la Legge n. 169 del 3 maggio 1989, che ha per oggetto la “Disciplina del trattamento e della commercializzazione del latte alimentare vaccino” ed i relativi DM applicativi, il n. 184 del 9 maggio 1991 (abrogato dal DPR 54/97), e n.185 del 9 maggio 1991.

I requisiti delle diverse classi merceologiche di latte pastorizzato previsti dalla 169/89 ricalcano quelli del regolamento 1411/71/CEE.

I Decreti Ministeriali 184 e 185 del 1991, stabiliscono i parametri di qualità del latte crudo destinato alla pastorizzazione (Tab.2).

	<b>Produzione latte alimentare D.M. 184/91</b>	<b>Produzione latte fresco pastorizzato A. Q. D.M. 185/91</b>
Residuo secco magro	≥ 8,50%	≥ 8,50%
Materia grassa	≥ 3,00%	≥ 3,50%
Materia proteica (N x 6,38)	≥ 28,0 g/l	≥ 32,0 g/l
Indice crioscopico	≤ -0,52°C	compreso tra -0,535 e -0,520
Carica batterica totale per ml	≤ 100.000*	≤ 100.000*
Cellule somatiche per ml	≤ 400.000*	≤ 300.000**
Acido lattico	-	≤ 30 ppm
Psicrotrofi		≤ 10
Residui Penicilline	≤ 0,004 µg	≤ 0.004 µg
Coliformi		assenti

**Tab. 2 Parametri di qualità del latte**

\* *media geometrica su due mesi (almeno 2 campioni al mese)*

\*\* *media geometrica su tre mesi (almeno 1 campione al mese)*

La legge 169/89 prevede delle verifiche dei requisiti igienico-strutturali nelle aziende di produzione, di quelli qualitativi sul latte alla stalla ed anche verifiche negli stabilimenti di lavorazione e sui prodotti finiti immessi al consumo.

Successivamente la UE, con la Direttiva n.43 del 14 giugno 1993, sull' "Igiene dei prodotti alimentari", ha definito per le aziende di produzione e di trasformazione, un programma di prevenzione delle frodi alimentari. I punti principali sono:

- 1) la libera circolazione dei prodotti alimentari presuppone la fiducia nel livello di sicurezza, sotto il profilo igienico, attuato in tutti i Paesi dell'Unione, per non esporre il consumatore ad eventuali rischi a causa di prodotti non adatti al consumo umano o potenzialmente pericolosi per la salute umana;
- 2) la tutela della salute umana costituisce una preoccupazione fondamentale;
- 3) la preparazione, la trasformazione, la fabbricazione, il confezionamento, il deposito, il trasporto, la distribuzione, la manipolazione, la vendita o la fornitura di prodotti alimentari devono essere effettuati in modo igienico;

- 4) per “igiene dei prodotti alimentari” si intendono tutte le misure necessarie per la sicurezza e l’integrità dei prodotti alimentari;
- 5) le aziende del settore alimentare devono focalizzare l’attenzione nella loro attività in ogni fase che potrebbe rilevarsi critica per la sicurezza degli alimenti e garantire che siano individuate, applicate, mantenute e aggiornate le opportune procedure di sicurezza avvalendosi dei principi su cui è basato il sistema HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points).

La stessa Direttiva prevede che le ispezioni effettuate dalle autorità competenti comportino una valutazione generale dei rischi potenziali in materia di sicurezza alimentare, legati alle attività dell’azienda. Un’attenzione particolare è prestata dalle autorità competenti ai “punti critici” di controllo evidenziati dalle aziende alimentari, per determinare se le operazioni di sorveglianza e di verifica sono effettuate correttamente. Bisogna anche assicurarsi che gli addetti alla produzione siano controllati ed abbiano ricevuto un addestramento, una formazione in materia di igiene alimentare, in relazione al tipo di attività.

L’Italia ha recepito con il Decreto Legislativo n° 155 del 26 maggio 1997 le Direttive 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l’igiene dei prodotti alimentari.

Nell’articolo 3 di questo Decreto Legislativo, si introduce il principio dell’autocontrollo igienico-sanitario nell’industria alimentare attraverso il sistema HACCP.

Al fine di facilitare l’applicazione delle misure di autocontrollo nel successivo articolo 4 si dispone la possibilità di redigere manuali di corretta prassi igienica adeguati alla specifica attività. Questo è uno strumento per studiare in modo approfondito i pericoli, i rischi ed i mezzi di controllo mediante un’analisi delle fasi di lavorazione e per fornire informazioni tecniche specifiche del settore in cui si opera.

Per quanto riguarda le norme sanitarie per la produzione e la commercializzazione del latte crudo, di latte trattato termicamente e di prodotti a base di latte sono disciplinate dalle Direttive CEE 92/46 e 92/47 recepite in Italia con il DPR del 15 gennaio 1997 n° 54.

Le principali novità introdotte dal DPR 54/97 possono essere riassunte come segue:

- la creazione di albi nazionali di registrazione delle aziende produttrici di latte e trasformatrici, controllate e certificate del punto di vista igienico-sanitario;
- l’obbligo di controllo periodico per le aziende di produzione e permanente per le aziende di trasformazione del latte, da parte dell’autorità veterinaria;

- la fissazione di valori minimi e massimi fisico-chimici e microbiologici che il latte delle diverse specie lattifere ed i prodotti lattiero-caseari dovranno rispettare per poter essere commercializzati;
- la determinazione di standard costruttivo-operativi ed igienico-sanitari minimi per le aziende di produzione e trasformazione del latte;
- l'autocontrollo igienico-sanitario della trasformazione del latte che indica nel conduttore dello stabilimento il primo responsabile per i rischi alla salute umana derivanti dal prodotto;
- la previsione di un bollo sanitario da apporre sui prodotti lattiero-caseari;
- l'obbligo di dichiarare sull'etichetta il tipo di trattamento termico subito dal latte;
- la creazione di un laboratorio europeo e di un laboratorio nazionale di riferimento per le analisi del latte e dei prodotti lattiero-caseari.

## **II.2.2 IL REG.(CE) N° 178/2002, LA RINTRACCIABILITA' DEL LATTE E LA SCADENZA**

Il mercato del latte alimentare negli ultimi anni si trova in fase di evoluzione anche a seguito delle ultime normative che ne regolamentano la produzione, l'immissione in commercio, la rintracciabilità e la data di scadenza. Come già detto, la legge 169/89 (con i successivi decreti delegati) e il D.P.R. 54/97 definiscono le tipologie di prodotti ammissibili. La circolare del MAP (Ministero delle Attività Produttive) n.167 del 2/8-2001, precisa che il latte alto pastorizzato può avere una *“durabilità (data di scadenza) determinata, in conformità al decreto n. 109/1992, direttamente dal produttore e sotto la sua responsabilità diretta”*. La circolare precisa inoltre che *“la legge 3 maggio 1989 n.169, prescrive per i diversi tipi di latte il relativo periodo di validità”* e che *“tale previsione non può ovviamente applicarsi anche ai latti confezionati in altri Stati membri ed avviati verso il mercato italiano”*.

La circolare, sulla base di quanto previsto dalla Direttiva 2000/13/CE, precisa che *“la data di scadenza ed il termine minimo di conservazione per i diversi tipi di latte confezionati, provenienti da altri Stati membri, possono essere determinati direttamente dai confezionatori in conformità alle disposizioni vigenti nei Paesi d'origine”*.

I principi e le indicazioni riportate nella circolare 167/2001 del MAP prevedono, quindi, la presenza sul mercato italiano di latte fresco pastorizzato di produzione di altri Paesi membri con validità commerciali più lunghe rispetto ai sei giorni previsti per la produzione

nazionale. Tale situazione è in grado di determinare una condizione di disparità commerciale tra i prodotti locali ed i prodotti di altri Paesi comunitari ottenuti con tecnologie analoghe (alto pastorizzato) o con tecnologie innovative quali la microfiltrazione. Questa tecnologia, fino ad arrivare al D.L. n. 178/02, non era autorizzata ne in Italia ne nel resto d'Europa, provocando ulteriori dubbi sulla legittimità di questa, infatti, il latte derivato era prodotto esclusivamente per l'esportazione e non per il mercato interno del paese produttore. Il latte ottenuto era posto in commercio con una conservabilità di 8-10 giorni.

Pertanto con le stesse denominazioni possono essere indicati prodotti con caratteristiche industriali e qualitative diverse e legalmente circolanti nell'Unione Europea. Ciò a scapito della chiarezza e della possibilità di scelta del consumatore. Ciò determina l'aggravamento della bilancia commerciale del settore che, oltre ai problemi di fondo derivanti dal regime delle quote di produzione primaria, supporta anche i costi derivanti dall'importazione di valore aggiunto industriale. Considerando che i due tipi di latte ed in particolare il latte pastorizzato fresco di alta qualità utilizzano la materia prima di produzione locale (principio informativo di base della legge 169/89), una loro perdita di mercato comprimerà ancora di più le possibilità produttive delle stalle locali.

Seguendo probabilmente questo tipo di ragionamenti, sono stati emanati due Decreti riguardanti la data di scadenza e la rintracciabilità del latte fresco in attuazione del decreto legislativo 181/2003, pubblicati il 24 luglio 2003 nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana. Con il primo decreto (Ministeri Politiche agricole, Attività Produttive e Salute) è determinata la data di scadenza del "latte fresco pastorizzato" nel sesto giorno successivo a quello del trattamento termico mentre la data di scadenza per il "latte microfiltrato *fresco*" è determinata nel decimo giorno successivo a quello del trattamento termico.

Il secondo decreto (Ministeri Politiche Agricole e Attività Produttive) riguarda il sistema di rintracciabilità del latte e definisce gli obblighi di ciascun soggetto che produce latte alimentare vaccino. In particolare, è prevista l'indicazione obbligatoria in etichetta non solo della data di scadenza, ma anche del luogo di mungitura del latte fresco, realizzando così una piena tracciabilità dalla stalla al banco di vendita al consumatore (Montuoro & all., 2003). Questo obbligo è divenuto cogente con il primo giugno 2005 e la doppia possibilità:

- zona di mungitura;
- provenienza del latte

Un capitolo a parte, merita il Regolamento CE 178 del 28 gennaio 2002 relativo ai principi e requisiti generali della legislazione alimentare, Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, procedure nel campo della sicurezza alimentare. Questo mira, insieme al provvedimento base, emanato nell'ambito del più vasto programma della Commissione che è stato esposto nel Libro bianco del 2000 sulla sicurezza dei cibi e che punta a riformare la legislazione alimentare per assicurare, in primo luogo, un livello elevato di tutela per la salute. Il regolamento nei suoi primi due capi, oltre a porre una serie di definizioni, fra cui quella fondamentale di alimento, stabilisce:

- i principi generali che vincolano immediatamente i legislatori interni nel porre discipline future, che li impegnano a conformarvi la loro attuale legislazione quanto prima e, comunque, non oltre il primo gennaio 2007 e che costituiscono immediati criteri interpretativi per le normative oggi vigenti;
- fissa alcuni obblighi per gli operatori del settore e specifica i requisiti essenziali di alimenti e mangimi con disposizioni orizzontali valide per il mercato interno e per l'import-export.
- istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, dispone l'attuazione di controlli e fissa procedure cautelari in tema di allarme rapido nonché per la gestione delle crisi e delle situazioni di emergenza, che introducono sicuri elementi di novità, ma sui quali non ci si soffermerà.

Le disposizioni contenute nei primi due capi del regolamento 178/2002, la cui applicabilità è stata in parte differita nel tempo, stabiliscono, pertanto, in primo luogo lo scenario per l'armonizzazione della legislazione alimentare. Contemporaneamente fissano gli obblighi fondamentali degli operatori nonché prescrizioni più generali, che il regolamento, per sua natura direttamente applicabile, ha reso obbligatorie soltanto con il primo gennaio 2005. Caratteristica più generale del provvedimento è quella di investire la catena alimentare nella sua integralità e in ogni sua fase, dalla produzione alla trasformazione e alla distribuzione degli alimenti e dei mangimi. Principio cardine della programmata armonizzazione, poi, è la chiara affermazione che nella sicurezza alimentare la responsabilità primaria grava sugli operatori del settore, tenuti a non immettere sul mercato cibi o mangimi a rischio e a garantire il rispetto della legislazione, che dovrà essere fondata su basi scientifiche, attraverso l'analisi del rischio, ma temperata dal principio di precauzione.

La prima, rilevante novità del regolamento 178/2002 sta nell'aver dettato la definizione di alimento, indispensabile per consentire l'uniforme applicazione in Europa della legislazione alimentare, ma potenzialmente idonea anche a influenzare l'interpretazione di norme interne, soprattutto negli ordinamenti che, come l'italiano, non contengono, un'analogha indicazione. Centrale nella logica del regolamento è l'indicazione che sugli operatori del settore grava la responsabilità primaria nell'assicurare la sicurezza dei cibi e dei mangimi. Non si tratta di principio del tutto nuovo nella legislazione alimentare, perché era implicito nella previsione, già contenuta nelle discipline sulla sicurezza generale dei prodotti, che comportava l'obbligo per i soli produttori di immettere sul mercato esclusivamente prodotti sicuri. Nel campo alimentare il principio è stato ripreso ed espresso in termini chiari e precisi e quindi idonei ad accentuare gli obblighi degli operatori, espressamente chiamati non soltanto a garantire che nelle imprese controllate gli alimenti o i mangimi soddisfino le disposizioni della legislazione alimentare inerenti alle loro attività in tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione, ma anche a verificare che le normative vigenti siano rispettate.

Un'effettiva novità introdotta dal regolamento è la previsione della rintracciabilità. Non si tratta di una novità assoluta perché nella sua versione integrale il sistema HACCP avrebbe dovuto coprire ogni fase della produzione alimentare, compresa quella primaria e, di conseguenza avrebbe dovuto funzionare sostanzialmente collegato alla rintracciabilità. L'art. 18, commi 2° e 3°, ne dispone, però, l'introduzione in forma attenuata.

I ricordati precetti, contro quanto è stato sostenuto, appaiono sufficientemente chiari e precisi, sicché, non sembrano richiedere necessarie integrazioni per imporsi agli operatori. Questi devono essere in grado di individuare chi abbia loro fornito un alimento, un mangime, un animale destinato alla produzione alimentare e disporre di sistemi e procedure, che consentano di esibire alle autorità competenti le relative informazioni. Analoghe operazioni sono imposte per individuare le imprese cui hanno fornito i loro prodotti. L'art. 18 del Reg. 178/2002, ma su questo punto si richiede espressamente normativa integratrice, prevede anche che la rintracciabilità intesa come storia del prodotto, debba essere rappresentata nell'ultimo passaggio verso il consumatore con un'adeguata etichettatura o identificazione degli alimenti o mangimi commercializzati sul mercato comunitario(Coscia, 2002).

Attualmente la rintracciabilità per il latte fresco in Italia è regolata dai termini del decreto 27 maggio 2004 del Ministro delle Attività Produttive e del Ministro delle Politiche

Agricole e Forestali, esso delinea anche i termini di scadenza dello stesso. Tale decreto ministeriale modifica, alla luce dell'assetto delineato dalla legge 204/2004, la normativa sulla rintracciabilità del latte prevista già dal D.M. 24.07.2003, intesa ad assicurare la più ampia tutela degli interessi del consumatore. Per mettere in pratica tutte le disposizioni dei suddetti regolamenti e delle suddette leggi, occorre mettere a punto delle linee guida che permettono di tracciare e rintracciare un alimento durante l'intera filiera agro-alimentare. Il 14 gennaio 2005 è stato emanato il decreto ministeriale recante la stesura del manuale aziendale per la rintracciabilità del latte, tramite delle linee guida. Le linee guida hanno lo scopo di indirizzare gli operatori nella realizzazione e nell'applicazione del suddetto manuale, il quale deve contenere tutte le procedure e la relativa modulistica per la registrazione dei dati, indispensabili alla ricostruzione del percorso di produzione del latte fresco. Nella stesura del manuale aziendale sulla tracciabilità e rintracciabilità deve essere assicurata la continuità di tutte le fasi che portano alla ricostruzione della storia del prodotto; in sintesi ogni stadio non può ritenersi assestante.

I soggetti obbligati nel manuale aziendale per la tracciabilità e rintracciabilità sono:

- i titolari degli allevamenti
- i primi acquirenti
- i titolari dei centri di raccolta
- i titolari dei centri di standardizzazione
- i trasportatori
- i responsabili delle aziende di trattamento

L'iter legislativo originato dal Reg.CE 178/2002 può essere considerato chiuso in Italia dal 5 aprile 2006, dopo l'emanazione del Decreto legislativo n. 190 che stabilisce la disciplina sanzionatoria per le violazioni al suddetto regolamento(Montuoro, 2006).

### **II.2.3 IL "PACCHETTO IGIENE"**

I recenti regolamenti comunitari costituenti il cosiddetto "pacchetto igiene" (Regolamenti (CE) 852, 853, 854, 882/2004, e Direttiva 2002/99) approfondiscono e precisano le tematiche della sicurezza alimentare e le modalità di applicazione del sistema HACCP. Risultano quindi superate le normative comunitarie in materia di autocontrollo, basate sulla Direttiva 93/43/CEE, abrogata dal Regolamento (CE) 852/2004. Inoltre,

l'applicazione del "pacchetto igiene" comporta l'abrogazione totale o parziale di numerose normative specifiche per diversi settori produttivi(Direttiva 2004/41/CE).

Il "pacchetto igiene" è stato di recente integrato dal Regolamento (CE) 1831/2003, che stabilisce i requisiti per l'igiene dei mangimi.

### **1. Regolamento (CE) 853/2004**

L'ambito di applicazione è lo stesso del Decreto legislativo 155/1997: non si applica alla produzione primaria, né a quella domestica. La possibilità di applicazione alla produzione primaria sarà riesaminata in seguito alla luce dell'analisi degli effetti del presente regolamento. Si raccomanda inoltre una certa flessibilità nell'applicazione delle norme, per consentire l'utilizzazione di metodi produttivi tradizionali. Ancora, viene rimarcata l'importanza della rintracciabilità come strumento per garantire la sicurezza alimentare.

Il Regolamento stabilisce in particolare quanto segue:

- requisiti generali e specifici in materia di igiene, validi anche per la produzione primaria;
- analisi dei pericoli e dei punti critici di controlli e conferma del sistema HACCP come strumento di analisi e controllo delle condizioni di igiene e sicurezza delle produzioni alimentari;
- rimangono in vigore i manuali di buona prassi elaborati ai sensi della Direttiva 93/43/CEE;
- viene promossa l'elaborazione e la divulgazione di manuali di buona prassi comunitari e nazionali, la cui applicazione rimane comunque volontaria;
- nel caso l'applicazione del regolamento abbia impatto significativo sulla salute pubblica, la Commissione consulta per un parere l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare.

Le precisazioni inerenti all'applicazione della norma vengono riportate negli allegati al Regolamento (CE) 853/2004. In particolare, si richiama l'attenzione all'obbligo della formazione degli operatori del settore.

### **2. Regolamento (CE) 853/2004**

Questo Regolamento si applica ai prodotti di origine animale, trasformati o meno, ma non contempla gli alimenti composti anche solo parzialmente da prodotti di origine vegetale. Inoltre, salvo diversamente indicato, il Regolamento non si applica al commercio al dettaglio, né alla produzione primaria per il consumo domestico. Stabilisce quanto segue:

- gli stabilimenti adibiti alle lavorazioni di prodotti animali devono essere riconosciuti dalle autorità nazionali competenti. Tale obbligo non si applica agli stabilimenti che esercitano unicamente attività di produzione primaria, trasporto, magazzinaggio di prodotti che non vanno stoccati a temperatura controllata;
- i prodotti di origine animale devono essere contrassegnati, nei casi previsti, da un apposito bollo sanitario apposto ai sensi del Regolamento 854/2004;
- devono essere redatti elenchi di Paesi Terzi dai quali sono consentite le importazioni di prodotti animali. Il Regolamento stabilisce i requisiti di base per l'ammissione di un determinato paese terzo nel suddetto elenco;
- vengono definite le condizioni di lavorazione, stoccaggio, trasporto dei diversi tipi di prodotti di origine animale, precisando anche le temperature a cui tali operazioni devono essere effettuate.

### **3. Regolamento (CE) 854/2004**

Questo Reg. completa la normativa dell'igiene dei prodotti alimentari e dei mangimi stabilita dai due atti precedenti. Il Regolamento stabilisce in particolare quanto segue:

- requisiti per il riconoscimento degli stabilimenti da parte delle Autorità competenti;
- obbligo per gli operatori del settore alimentare di fornire alle Autorità tutta l'assistenza richiesta nell'esecuzione del controllo;
- i controlli sono basati sui principi del sistema HACCP;
- compiti e responsabilità del veterinario ufficiale nel controllo delle carni fresche
- modalità e frequenza dei controlli da parte delle Autorità competenti riguardo ai seguenti alimenti di origine animale: molluschi e bivalvi vivi, prodotti della pesca, latte e prodotti da esso derivati;
- sanzioni in caso di mancato rispetto degli obblighi fissati dal Regolamento stesso;
- completamento delle regole per l'importazione di prodotti di origine animale da Paesi terzi stabilite dal Regolamento 853/2004.

### **4. Regolamento (CE) 882/2004**

Questo Regolamento colma le lacune nella legislazione relativa ai controlli ufficiali in materia di mangimi e alimenti e delle condizioni di salute e benessere degli animali allevati.

Non si applica ai controlli ufficiali volti a verificare la conformità alle regole sull'organizzazione comune del mercato dei prodotti agricoli.

Obiettivi del Regolamento 882/2004 sono:

- prevenire o ridurre ad un livello accettabile i rischi derivati dall'ambiente per la salute umana e animale;
- garantire la trasparenza nel mercato degli alimenti e dei mangimi, e la tutela degli interessi dei consumatori.

Il Regolamento stabilisce in particolare quanto segue:

- obblighi per i Paesi UE e scopi dei controlli ufficiali in materia di mangimi e alimenti;
- criteri operativi per le Autorità competenti designate dai Paesi UE per tali controlli;
- accessibilità delle informazioni di pubblico interesse;
- tutela delle informazioni soggette a segreto professionale;
- requisiti dei metodi di campionamento e di analisi;
- elaborazione di misure da attuare in caso i controlli rivelino rischi per la salute;
- completamento delle disposizioni della Direttiva 97/78/CEE in materia di controlli sui prodotti animali provenienti da Paesi terzi;
- istituzione di Laboratori comunitari a cui i Laboratori nazionali possono fare riferimento nella loro attività;
- misure amministrative in materia di: elaborazione di Piani nazionali di controllo, formazione del personale addetto ai controlli, controlli da effettuarsi nei Paesi comunitari e nei Paesi extracomunitari, sanzioni a livello comunitario.

## 5. Direttiva 2002/99/CE

Questa Direttiva approfondisce ed armonizza le normative vigenti in materia di polizia sanitaria, regolando tutte le fasi della filiera dei prodotti di origine animale, dalla produzione primaria alla vendita. Si applica inoltre agli animali vivi destinati al consumo umano.

## 6. Indicazioni relative alle temp. di stoccaggio, trasporto di latte (Reg. (CE) 853/2004)

Stoccaggio

Prodotto	Temperatura (°C)	Riferimento
Latte vaccino appena munto (a)	≤ +8	All. III, Sez. IX, Cap. II
Latte vaccino appena munto (b)	≤ +6	
Latte da consegnare ad uno stabilimento di trasformazione (tutte le specie) (c)	≤ +6	

(a) Raccolta giornaliera; (b) Raccolta non effettuata giornalmente; (c) il latte può essere mantenuto ad una temperatura superiore a + 6°C se la trasformazione ha inizio immediatamente dopo la mungitura o entro 4 ore dall'accettazione presso lo stabilimento.

Trasporto

Prodotto	Temperatura (°C)	Riferimento
Latte vaccino	≤ +10	All. III, Sez. IX, Cap. II

## 7. Regolamento (CE) 183/2005

Il Regolamento (CE) 183/2005 indica i requisiti per l'igiene dei mangimi.

Questa normativa stabilisce quanto segue:

- gli obblighi per gli operatori del settore dei mangimi;
- l'applicazione del sistema HACCP alla produzione di mangimi, con esclusione della produzione primaria;
- additivi autorizzati nella produzione di mangimi;
- obbligo di notifica per gli operatori all'Autorità competente degli stabilimenti in loro possesso, nonché fornire informazioni aggiornate in merito;
- modalità di riconoscimento;
- casi in cui il riconoscimento può essere sospeso, revocato o modificato;
- preparazione di manuali nazionali e comunitari di corretta prassi igienica;
- regole per l'importazione e l'esportazione.

## 8. Coesistenza ed abrogazioni

L'introduzione nell'ordinamento comunitario del pacchetto igiene, pone subito un primo ordine di problemi riguardante la notevole quantità di normativa coinvolta sia a livello comunitario che soprattutto su quella nazionale. Molte delle direttive abrogate dai nuovi regolamenti sono state, infatti, recepite dalla normativa interna; di conseguenza la soppressione delle prime, porterà ripercussioni su quest'ultima. A tal proposito il Reg.(CE) n. 852/2004 prevede all'art. 17, una "clausola di salvaguardia" e stabilisce: "nell'attesa che siano stabiliti criteri e requisiti...*omissis*...gli stati membri possono mantenere le norme nazionali che stabiliscono tali criteri o requisiti da esse adottate ai sensi della Direttiva 93/43 CEE (D.lgs 155/1997)". Per criteri e requisiti si intendono soglie di tolleranza, metodiche di campionamento ed analisi, ossia tutte le misure da adottare a garanzia del raggiungimento degli obiettivi perseguiti dal Reg.(CE) n. 852/2004. Pertanto in attesa dell'opera di integrazione summenzionata da parte della Commissione CE, l'attuale disciplina nazionale continuerà ad essere applicabile. Non sempre, però, la nuova disciplina prevede clausole di salvaguardia come la suevidenziata; da ciò discende un secondo ordine di problemi

riguardanti l'individuazione della disciplina normativa applicabile nel caso della coesistenza delle nuove norme comunitarie con le normative nazionali di recepimento delle direttive abrogate, contenenti disposizioni aggiuntive rispetto al contenuto dei regolamenti costituenti il pacchetto igiene.

Nel confronto, ad esempio, tra il testo del Reg.(CE) n. 853/2004 relativo ai requisiti del latte crudo e dei prodotti lattierocaseari e il D.P.R. 54/97, di recepimento della Direttiva 92/46/CEE, abrogata dalla Dir. 2001/41/CE, emerge che non tutte le prescrizioni igienico sanitarie coincidono, in quanto il testo del decreto nazionale contiene determinate disposizioni non presenti nel Regolamento, quindi, ulteriori rispetto al contenuto di questo.

La problematica evidenziata trova, comunque, soluzione nel primato del diritto comunitario su quelli nazionali in virtù dei Trattati, nonché della forza espansiva diretta dell'ordinamento comunitario ogni volta che gli organi della UE facciano uso dei poteri normativi riconosciuti loro dai Trattati medesimi; alla luce di ciò, le norme nazionali di recepimento delle direttive abrogate saranno sostituite dai nuovi regolamenti comunitari, i quali si sovrapporranno ad esse ancorché formalmente considerate ancora in vigore, ma nelle sole parti in cui sarà possibile una sovrapposizione con la disciplina pregressa. Ciò significa che le disposizioni delle norme nazionali non contemplate dai nuovi regolamenti saranno mantenute in vigore e continueranno ad essere applicabili, mentre si intenderanno interamente superate quelle integralmente sovrapposte dalla nuova disciplina comunitaria.

### **II.3 TIPOLOGIE DI LATTE ALIMENTARE**

Il latte rappresenta uno dei prodotti fondamentali nell'alimentazione umana di tutte le età, proprio per questo è uno degli alimenti di prima necessità cioè rientra nella fascia dei bisogni primari. Negli ultimi anni, la gamma merceologica si è via via arricchita di nuove tipologie infatti, accanto a quelli “ tradizionali” quali pastorizzati, i freschi pastorizzati, a media e a lunga conservazione, ecc, oggi troviamo i latti “ modificati” come ad esempio i latti ad alta digeribilità, i latti arricchiti (fibra vegetale, fermenti lattici vivi), i latti vitaminizzati detti anche fortificati, i latti aromatizzati (Rossi, 2004) dei quali non parleremo in questa sede.

Il regolamento (CE) n. 2597/1997, stabilisce quali debbano essere le definizioni del latte alimentare (*latte crudo, latte intero, intero normalizzato, parzialmente scremato, scremato ecc.*) e i requisiti di composizione ( punto di congelazione, materia grassa, contenuto in materie proteiche, materia secca). Inoltre, l'art 2, comma 1, ne consente la fornitura o la

cessione senza trasformazione al consumatore finale, direttamente o tramite ristoranti, ospedali, mense o altre analoghe collettività.

Tutti i tipi di *latte alimentare*, con esclusione di quello totalmente disidratato, rientrano nella categoria delle *sostanze alimentari deteriorabili* (Decreto Min. Sanità 16 dicembre 1993). Tale concetto è stato ribadito dal Ministero delle Attività Produttive con il decreto 13 maggio 2003, il quale se pur con finalità non espressamente sanitarie, ha definito come prodotti alimentari deteriorabili tutti i tipi di latte. A riguardo sono riportate di seguito le diverse tipologie di latte alimentare, anche sotto il profilo della loro shelf-life e del trattamento termico subito.

### **II.3.1 I PROCESSI DI LAVORAZIONE DEL LATTE**

Il latte una volta munto e raccolto per essere messo in commercio, è sottoposto ad una serie di operazioni che comprendono la filtrazione, la standardizzazione del contenuto in grasso, l'omogeneizzazione, il risanamento, il confezionamento (Bastasin, 1991).

La filtrazione è effettuata per eliminare le particelle di sporco più grossolane, è effettuata con filtri oppure per centrifugazione allo scopo di ottenere dal trattamento una più completa separazione dello sporco in sospensione.

La standardizzazione del contenuto in grasso è ottenuta mediante l'utilizzo di centrifughe titolatrici che sono in grado di separare facilmente il grasso. In genere per ottenere un latte parzialmente o totalmente scremato si screma completamente il latte. La crema ottenuta, si aggiunge a latte intero fino ad ottenere i valori desiderati di grasso.

L'omogeneizzazione consiste nel diminuire le dimensioni dei globuli di grasso; si ottiene spingendo il latte sotto pressione attraverso una valvola in una camera a pressione atmosferica. Lo sbalzo di pressione unito all'urto dei globuli contro la valvola e tra di essi, ne provoca la rottura, il risultato è una diminuzione nel tempo di affioramento dei globuli di grasso. Associata all'omogeneizzazione può esserci la deodorizzazione del latte che consente l'allontanamento delle sostanze volatili responsabili di eventuali odori sgradevoli.

Il risanamento del latte è condotto allo scopo di prolungare il tempo di conservazione distruggendo i microrganismi patogeni eventualmente presenti; sfrutta il calore per la sua azione battericida e l'effetto di inattivazione sugli enzimi. Esistono vari trattamenti termici a cui il latte può essere sottoposto, differenziati dalle temperature e dai tempi impiegati:

TIPO DI LATTE	TRATTAMENTO TERMICO	OBIETTIVO
Termizzato	50-70°C per 15-20 sec	Riduzione flora con minime alterazioni delle proprietà del latte
Pastorizzato	70-85°C per 15-20 sec	Abbattimento di tutti i germi patogeni; migliore conservabilità a bassa T
Sterilizzato nei contenitori	110-120°C per 18-22 min	Prolungamento della conservabilità a temp. ambiente
Sterilizzato UHT (Corradini, 1995)	130-150°C per 1-3 sec	Prolungamento della conservabilità a temp. ambiente

Gli effetti del calore sui componenti del latte e sulla flora presente non dipendono solo dalla temperatura raggiunta durante i trattamenti, ma anche dai tempi in cui il latte sosta nei vari trattamenti, alle diverse temperature (Corradini, 1995). Questo concetto è espresso dalla 1ª equazione di Bigelow che enuncia che ad una certa temperatura T, individuata come letale per i microbi, la diminuzione del numero di microrganismi nel tempo è funzione, a meno di una costante K, del numero iniziale di microrganismi.

$$dNm /dt = -K \times Nm$$

dove  $dNm /dt$  indica la diminuzione del numero di microrganismi nel tempo;

$Nm$  indica il numero iniziale di microrganismi;

K è la costante di velocità di riduzione ( $\text{sec}^{-1}$ ) (Fantozzi, 1994).

Nell'equazione di Bigelow oltre al binomio tempo-temperatura è importante anche una terza variabile, la concentrazione iniziale del microrganismo; infatti tanto più alto sarà il numero iniziale di microrganismi nel substrato da trattare, tanto maggiore sarà il tempo necessario per ottenere una distruzione microbica alla temperatura letale (Fantozzi, 1994).

Dalla legge di Bigelow è possibile anche ricavare il tempo di riduzione decimale, D, che esprime il tempo necessario in secondi, a ridurre la popolazione microbica presente nel substrato da trattare ad 1/10 del suo valore iniziale. Tanto più elevato sarà questo valore, tanto più resistente sarà il microrganismo, l'equazione diventa:

$$D \times \log Nm_0 / N m_1 = t$$

dove  $Nm_0$  è il numero di microrganismi al tempo iniziale;

$N m_1$  è il numero di microrganismi presenti al tempo finale (Fantozzi, 1994).

Le condizioni di tempo-temperatura di processo permettono di ottenere la sanitizzazione del latte, ma provocano anche delle trasformazioni indesiderate. E' perciò

molto importante per la salvaguardia di molteplici aspetti qualitativi del latte (nutrizionali, organolettici, ecc...) che i parametri di processo non siano superati poiché questo andrebbe a danno delle caratteristiche qualitative del latte. Per questo motivo nelle legislazioni di vari paesi e nelle norme comunitarie, sono stati introdotti parametri analitici di controllo delle condizioni minime di trattamento (Corradini, 1995).

Le diverse condizioni di riferimento dei diversi tipi di trattamento termico del latte liquido riportate nella Legge 169/89 sono le seguenti:

Latte pastorizzato	Fosfatasi negativa Sieroproteine solubili non denaturate non <11%
--------------------	---

Latte fresco pastorizzato	Fosfatasi negativa Sieroproteine solubili non denaturate non <14% Perossidasi positiva
---------------------------	---

Latte fresco pastorizzato di alta qualità	Fosfatasi negativa Sieroproteine solubili non denaturate non <15,50% Perossidasi positiva
---	--

Latte sterilizzato a lunga conservazione Latte UHT a lunga conservazione	Scadenza a 180 gg. Scadenza a 90 gg.
---	---

Le modalità del trattamento termico a cui viene sottoposto il latte hanno come scopo la distruzione parziale o totale dei microrganismi in esso contenuti con le minori alterazioni possibili delle caratteristiche del latte crudo. L'effetto pastorizzante o sterilizzante è ottenuto, mediante diversi tipi di trattamento quali:

<b>TRATTAMENTI A FLUSSO CONTINUO</b>	<b>TRATTAMENTI A FLUSSO DISCONTINUO</b>
Scambiatori di calore a piastre	<b>Autoclave con sistema fisso</b>
Scambiatori di calore tubolari	Autoclave con sistema mobile (rotazione dei cestelli)
Procedimenti di sterilizzazione istantanea per condensazione del vapore nel latte	Impianti per la sterilizzazione in scatole di metallo
Energia meccanica (sterilizzazione per frizione)	Sterilizzatori idrostatici a torre

I trattamenti discontinui prevedono il trattamento del latte già confezionato in bottiglie o scatole metalliche mentre i trattamenti continui sono effettuati sul latte prima del suo confezionamento. Rientrano in quest'ultima categoria la pastorizzazione HTST e la sterilizzazione UHT (Corradini, 1995).

## II.3.2 I PROCESSI TRADIZIONALI DI LAVORAZIONE DEL LATTE

### 1. Premessa

La parola “controllo”, ha un significato multiplo poiché esiste l’obbligo di controllare:

- la materia prima latte
- i parametri e le condizioni di fabbricazione
- i parametri e le condizioni di distribuzione.

Queste tre azioni di controllo sono di competenza esclusiva del trasformatore, delle sue capacità, del suo know-how, dei mezzi che impiegherà a pulire, alla disinfezione dei locali e del materiale di fabbricazione.

Il latte raccolto contiene una flora microbica non controllata ricca di numerose specie frutto delle diverse contaminazioni apportate dalla mammella, dal materiale di mungitura, l’atmosfera, gli strumenti di trasferimento, di trasporto e di stoccaggio.

L’azione finalizzata ad ottenere un latte con una ridotta carica microbica, non può essere che di tipo preventiva, sviluppando e controllando delle severe pratiche igieniche, in partnership con i produttori e sulla base dei propri strumenti di produzione (Maubois, 1998).

### 2. Latte Pastorizzato(breve conservazione)

La pastorizzazione del latte è definita come processo termico che garantisce al consumatore un prodotto sicuro sotto il profilo igienico-sanitario, in seguito alla distruzione dei microrganismi patogeni e che provoca minime modificazioni chimiche, fisiche ed organolettiche (International Dairy Federation).

Con questo trattamento termico si produce un abbattimento della carica microbica del 97-99%, escludendo le spore ed i microrganismi termoresistenti che sopravvivono a tale processo. Sono due i fattori che influiscono nel determinare l’efficacia del trattamento: la carica microbica iniziale, che deve essere bassa per ottimizzare il trattamento, ed il binomio tempo-temperatura (Garbati, 1990).

Lo scambio termico che è alla base di questo processo avviene attraverso particolari dispositivi: gli scambiatori di calore. In questi apparecchi lo scambio di calore avviene attraverso una sottile parete metallica che separa due fluidi, uno caldo e l’altro freddo che circolano in senso opposto (Corradini, 1995).

Gli scambiatori sono dotati di dispositivi automatici che garantiscono il controllo del processo: il raggiungimento della temperatura voluta e il suo mantenimento per il tempo necessario, il controllo della temperatura in uscita, la velocità del flusso, la messa in atto di

dispositivi di emergenza, con recupero del prodotto, se si verificano difetti nel procedimento (Cappelli, 1991).

Questi dispositivi in base alla loro struttura si distinguono in scambiatori a fascio tubiero e scambiatori a piastre:

- gli scambiatori tubolari sono costituiti da un insieme di tubi nei quali scorre il latte, posti all'interno di un contenitore cilindrico contenente acqua calda o vapore (Fantozzi, 1994);
- gli scambiatori a piastre sono costituiti da piastre metalliche serrate le une contro le altre che creano delle intercapedini nelle quali scorrono in sequenza alternata il latte ed un fluido di riscaldamento (Fig. 1) (Cappelli, 1991).

Durante il processo termico, in uno stesso blocco, il latte freddo è preriscaldato dal latte che esce dal settore di riscaldamento, poi viene portato alla temperatura di pastorizzazione con acqua calda; in seguito viene parzialmente raffreddato dal latte crudo che entra nell'impianto (Corradini, 1995).

Esistono due sistemi di pastorizzazione: lento e rapido. Nella pastorizzazione bassa, o lenta, il latte raggiunge la temperatura di  $65^{\circ}\text{C}$  per circa 30'. Tale sistema è ormai in disuso per l'alto costo d'esercizio e per il lungo tempo impiegato. Nella pratica industriale è utilizzata la pastorizzazione rapida operando a temperature comprese tra i  $72$  e  $80^{\circ}\text{C}$  per tempi di 10-20 secondi, in apparecchi in cui il latte scorre su uno strato sottilissimo di circa 1mm di spessore. E' il caso del sistema HTST (High Temperature Short Time) per il quale la Dir.CEE prevede come minimo il raggiungimento di  $71,7^{\circ}\text{C}$  per 15''.

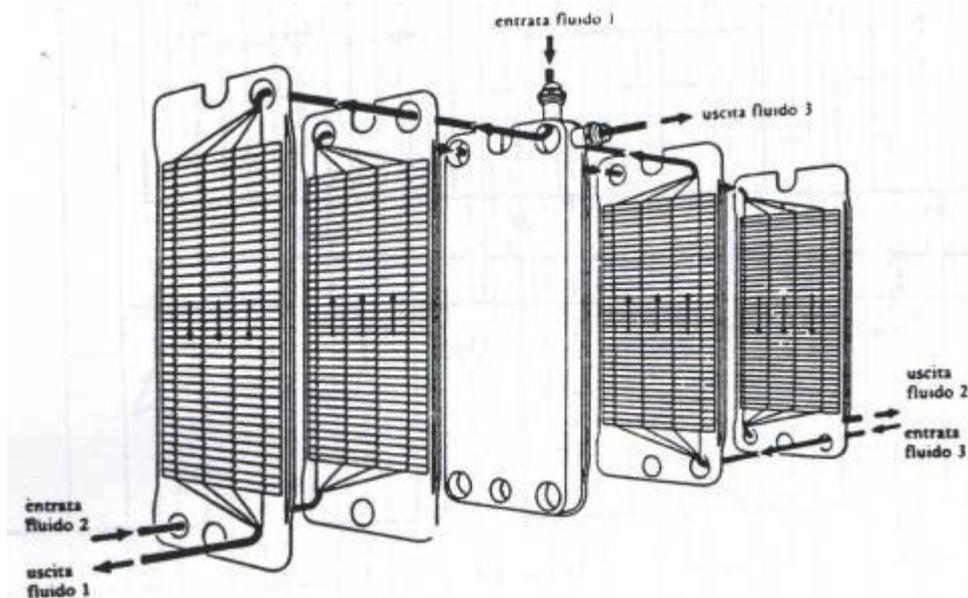


Fig.1 Schema di circolazione in uno scambiatore di calore a piastre Alfa-Laval (Alais, 1974).

Per il controllo dell'efficacia del trattamento termico viene effettuata la ricerca analitica della Fosfatasi alcalina, la cui prova deve dare esito negativo, e la Lattoperossidasi, la cui prova deve essere positiva (Bastasin, 1991).

La Fosfatasi alcalina è un enzima termolabile: viene completamente inattivato a condizioni di trattamento termico (62°C per 30 minuti) leggermente più drastiche di quelle richieste per la distruzione dei germi patogeni (Corradini, 1995).

La persistenza dell'attività nel latte pastorizzato della Lattoperossidasi è adottata come indice di buona qualità del prodotto, in quanto essa è inattivata dai trattamenti termici ad alta temperatura o da un trattamento a 80°C per 30 secondi, condizioni molto più drastiche di quelle necessarie per il normale processo di pastorizzazione (Corradini, 1995).

Il sistema di confezionamento utilizzato per il latte pastorizzato che più si è affermato è quello in cartoncino poliaccoppiato polietilene/carta/polietilene (Triplex). Il contenitore può essere a forma di brik (parallelepipedo a base rettangolare) oppure un fustellato con la tipica chiusura a timpano (Frontini, 1998).

### **3. Latte UHT (media conservazione)**

Il latte UHT ha subito un trattamento termico elevato (130-150 °C per tempi che vanno da 20" a poche frazioni di secondo) seguito dal confezionamento asettico e con termine minimo di conservazione di giorni 90 dalla data di confezionamento. E' considerato una conserva a tutti gli effetti e per ciò conservato normalmente a temperatura ambiente, anche se per la legge italiana è ammessa una tolleranza di 120 microrganismi/ml dopo incubazione (Rossi et.al, 2004).

Questo tipo di trattamento può seguire due schemi principali.

Nel primo detto "indiretto" il latte è preriscaldato a 75°C ed in seguito subisce una stabilizzazione centrifuga per rimuovere il sedimento proteico; quindi è omogeneizzato e preriscaldato a 108°C per un tempo di 30"; successivamente il latte raggiunge la temperatura di 135 – 138°C per 2" ed in seguito è raffreddato a 70°C, degassificato e immesso in un contenitore asettico.

Nel secondo metodo detto "diretto" o uperizzazione, il latte è pre-riscaldato a 75 - 80°C per 4 minuti e nello stesso si pratica una iniezione di vapore a 13atm per 15" con la quale il prodotto raggiunge la temperatura di 140 – 145°C in 4". In seguito, per espansione sotto vuoto, il prodotto perde l'acqua incorporata con il vapore, il latte è portato alla temperatura di 75°C, omogeneizzato e condizionato asetticamente (Fantozzi et al. 1995).

#### **4. Latte Sterilizzato (lunga conservazione)**

Il latte a lunga conservazione (latte sterilizzato) ha subito un doppio trattamento termico prima sfuso (130-150 °C per pochi secondi) e poi in contenitore sigillato (120 °C per 20- 30 minuti), idoneo ad assicurare la distribuzione di tutti i microrganismi presenti nel latte o che ne impedisca definitivamente la proliferazione, e con termine minimo di conservazione di 180 giorni dalla data di confezionamento (Rossi, et. al, 2004).

È un latte ormai scomparso per il consumo diretto.

#### **II.3.3 LE NUOVE ESIGENZE DEI CONSUMATORI**

L'attuale mercato del latte alimentare, pari a poco più di 3 miliardi di litri, è suddiviso tra il 55% circa di latte a lunga conservazione (UHT), ed il 45% di latte fresco pastorizzato, quest'ultimo segmento con un andamento maggiormente sofferto. Per quanto concerne queste due grandi aree di business è improbabile prevedere sostanziali modificazioni in quanto il mercato resta globalmente stabile, con cedimenti, sia pure modesti, nei consumi, fenomeno comune a tutti i mercati dell'occidente.

Il latte è un prodotto che ha raggiunto piena maturità, almeno nel modo con cui siamo abituati a conoscerlo, difficile da rivitalizzare. All'interno dei due grandi segmenti, UHT e fresco pastorizzato, quest'ultimo sperimenta un'ulteriore frammentazione a seguito di interventi legislativi che ne hanno modificato la shelf-life.

In Italia, infatti, la legge oggi prevede che il latte possa restare sullo scaffale sei giorni più uno; in altri paesi, come ad esempio Germania e Austria, una regola più liberale lascia alle imprese la facoltà di stabilire quanto a lungo il latte possa essere definito fresco in virtù del fatto che se ne conosce l'origine, la qualità di trasformazione ed il sistema distributivo. Le aziende tedesche e austriache si sono uniformate tutte, pur non esistendo una specifica richiesta, per una durata del prodotto concordata in otto giorni più uno. A lungo il sistema industriale italiano ha mantenuto salda la sua posizione sui quattro giorni, prolungata poi a sei, più uno nell'ottica di una protezione del mercato.

Il cambiamento della società italiana in questi ultimi anni, ha portato ad un rapporto diverso dei consumatori con i prodotti alimentari. In particolare, per il settore latte fresco si è sviluppata una superiore difficoltà al consumo dovuta alla breve durata legale e alle nuove abitudini che comportano una spesa a cadenza settimanale in grandi supermercati e ipermercati spesso non a portata di mano. Con questa nuova realtà, il grande rischio era quello

di spostare l'equilibrio ormai raggiunto tra consumo di UHT e Pastorizzato decisamente verso l'UHT che, anche se di caratteristiche nutrizionali ed organolettiche decisamente inferiori all'altro, ha il vantaggio di una grande comodità d'uso.

La prima risposta a queste nuove esigenze è stata la battaglia per prolungare la vita dei latti pastorizzati da quattro a sei giorni. Contestualmente sono stati messi in commercio sul mercato italiano altri latti "freschi" con una durata superiore ai sei giorni. Uno di questi, lanciato dal gruppo Parmalat, consiste in un latte fresco pastorizzato che, pur avendo caratteristiche simili a tutti gli altri della sua categoria, è stato caricato di una valenza maggiore a seguito del tipo di trattamento (microfiltrazione) e dell'immagine complessiva del prodotto. Si trattava però di un latte prodotto nei termini di legge di otto giorni più uno, così come previsto dalle norme tedesche, sulla base di regolamenti comunitari inerenti la libera circolazione delle merci.

Quasi contemporaneamente, l'altro grande gruppo italiano del settore, Granarolo, ha lanciato sul mercato un latte "alto pastorizzato" anche questo caratterizzato da una durata decisamente superiore al pastorizzato classico. Questo è un prodotto che subisce un trattamento fisico a temperature più elevate rispetto ai 75°C della pastorizzazione tradizionale; viene infatti trattato a temperature che vanno dagli 85 ai 115°C; ciò consente che il latte duri oltre i 10 giorni. Queste azioni hanno rappresentato una prima sfida, e ciò indipendentemente dall'esito commerciale del prodotto, che ha costretto tutte le aziende italiane ad accelerare un processo, finora frenato, di modifica della durata del prodotto.

Conseguenza diretta di ciò, è che oggi il latte può essere trasportato a distanze ancora maggiori rispetto al recente passato, modificando quindi gli equilibri nel settore, le opportunità per i produttori, ma anche le possibilità di frodi in particolare in relazione alla provenienza e alla qualità del latte alimentare. Quindi in questi ultimi anni si è lavorato molto nel settore del fresco per fornire ai consumatori una gamma di prodotti più ampia, diversificata e più facilmente adattabile alle proprie esigenze. Rientra tra questo anche la produzione di latte biologico e latte crudo in quanto una parte dei consumatori avverte la necessità di tornare a prodotti più "genuini" ed a sapori che ricordano luoghi e tempi passati. Una parte degli addetti ai lavori è stata pronta ad accogliere questi cambiamenti, ma propone l'immissione sul mercato di un nuovo segmento del latte, caratterizzato da valenze qualitative e biologiche elevate, particolarmente forti, che si sono e dovranno necessariamente riflettersi nell'immagine e nella comunicazione, al consumatore finale. Questo significa che esiste la

possibilità di proteggere il prodotto locale, auspicabilmente il migliore, grazie alla vicinanza alla stalla, lasciando a questo prodotto la possibilità di essere il solo a fregiarsi della dicitura "Alta Qualità" con una durata simile a quella attuale, ovvero i sei giorni. Questi latti, però, non intaccano il segmento della lunga conservazione, bensì quello del latte fresco pastorizzato perché nonostante la migliorata conservabilità di alcuni prodotti, necessitano di una conservazione all'interno di una rigorosa catena del freddo e, quindi, nel frigorifero del consumatore finale (lo stoccaggio di quantità non potrebbe essere effettuato, considerando la dimensione media dei frigoriferi della popolazione italiana). Il consumatore di latte a lunga conservazione continuerà ad acquistare UHT per le sue valenze di comodità, non sostituendolo con l'alto pastorizzato o il microfiltrato. I consumatori di latte fresco pastorizzato potranno invece orientare parte della propria scelta verso questi.

#### **II.3.4 I NUOVI PRODOTTI ED I NUOVI PROCESSI**

##### **1. Tecnologie per l'estensione della shelf-life**

Il termine E.S.L. (extended shelf-life o prolungamento della vita media), sottintende un particolare sistema d'innovazione tecnologica e di modificazione del trattamento termico che, applicato ad alimenti liquidi, particolarmente al latte pastorizzato, ne permette una maggiore conservabilità, senza peraltro farne perdere le caratteristiche di un prodotto fresco.

Per queste sue caratteristiche il sistema, già da tempo applicato negli USA, in Canada e nelle regioni Scandinave, si sta diffondendo anche nell'Unione Europea (Del Bono 1997).

A seconda del tipo di trattamento impiegato e della shelf-life del prodotto finale, possiamo distinguere varie categorie di latte pastorizzato.

##### **2. Microfiltrazione**

Se è possibile intervenire con innovazioni di processo che necessitano elevati interventi di capitale, ed il consumatore richiede un latte conservabile fino a 25 giorni, una delle risposte tecnologiche come già accennato in precedenza è la microfiltrazione.

In questo processo i batteri e le spore sono rimosse dal latte tramite microfiltrazione usando filtri di ceramica in serie con pori che si riducono progressivamente fino a raggiungere un diametro di 0.8-1.2 micron (Gordon, 1995).

In realtà con questa tecnologia non si può pensare di superare i 16-18 giorni di shelf-life del latte, in quanto una serie di fattori enzimatici (proteasi) di origine per lo più esogena (*Pseudomonas spp*), favoriscono l'insorgere di sapori anomali (amaro).

L'impiego della microfiltrazione tangenziale a membrana rappresenta una possibilità che può portare alla massima sicurezza igienica tramite una depurazione batterica quasi totale. È utilizzata per separare i batteri dalle altre componenti particellari del latte, in quanto esistono delle differenze tra le distribuzioni della taglia delle micelle di caseina e dei batteri che si incontrano più frequentemente nel latte. L'estrapolazione industriale di questo concetto di separazione è stata possibile soltanto grazie allo sviluppo di nuove membrane ceramiche aventi un supporto altamente permeabile.

Nel metodo "bactocatch" il latte fresco scremato viene messo a contatto con una membrana avente dei pori del diametro di 1.4 micron, ad una temperatura che si situa generalmente tra 35 e 50°C.

La velocità di ricircolo del concentrato è nell'ordine di 7.7-8.5 m/s. il differenziale di pressione transmembrana si avvicina a 0.55 bar. Il rapporto esistente tra la portata di latte in entrata e quella del concentrato in uscita (FCV) è 20. Se si inserisce un secondo microfiltro si può raggiungere un FCV di 200. Con un FCV uguale a 20, le prestazioni idrauliche osservate sia a livello di impianti pilota sia a livello di impianti industriali, sono nell'ordine dei 550 lh<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> di microfiltrato per 10 ore di funzionamento.

La riduzione decimale della popolazione batterica osservata tra il latte in entrata ed il microfiltrato è in media 2.6, corrispondente ad una concentrazione del 99.5% dei batteri contaminanti nel concentrato (5% del latte lavorato). Questa ritenzione è indipendente dal livello di contaminazione iniziale, ma può variare con la morfologia e il volume cellulare.

Recenti progressi hanno permesso di diminuire le dimensioni dei pori, portando all'aumento di un'unità di tutti i valori di riduzione decimale. Sono state osservate riduzioni superiori a 3 unità in *Mycobacterium tuberculosis* e *Brucella abortus*, patogeni aggiunti a latte fresco. Le altre componenti particellari del latte (cellule somatiche, muffe e lieviti), data la dimensione più grande rispetto al diametro dei pori della membrana utilizzata, vengono completamente trattenute.

Sono possibili due varianti tecnologiche per il trattamento del concentrato di microfiltrazione: il trattamento termico oppure il riciclaggio a monte della scrematrice.

La reincorporazione della panna ottenuta dalla separazione centrifuga del latte intero fresco, in vista della standardizzazione, richiede ovviamente un trattamento termico precedente. Le coppie tempo/temperatura utilizzate variano da una pastorizzazione H.T.S.T.

(72°C per 15”) ad una semi sterilizzazione (115°C per 3-10”) con una dominanza della pastorizzazione alta (90°C per 30s).

Il latte prodotto dalla miscela panna termizzata e latte microfiltrato, a seconda del contenuto in materia grassa riscontrato nella panna e di quello riscontrato nel latte, avrà un volume del 90-93%, con una differenza quindi del 7-10% rispetto al latte tradizionale.

Data la temperatura di lavorazione (35-40°C), il metodo bactocatch permette la conservazione di molte delle caratteristiche “originali “ nel microfiltrato, soprattutto sul piano organolettico. Il suo impiego industriale è iniziato in Scandinavia, in Canada e in Francia, dove è stato commercializzato con una shelf-life di 15 giorni (Maubois, 1998).

I problemi evidenziati con questa metodologia sono stati il maggior costo del processo, il fatto che questo latte non è intero al 100%, ma soltanto al 90-95%, la possibilità di produrre un latte “sicuro” da latte crudo scadente, il trattamento della panna è negativo per le conseguenze che comporta sull’ossidazione dei grassi.

In Italia, dopo varie vicissitudini dovute a lotte commerciali in atto e a vacanze normative, un decreto del Ministero della salute del 17 giugno 2002, concernente il "trattamento di microfiltrazione nel processo di produzione del latte”, ha riconosciuto questo trattamento il che ha permesso di produrre questo tipo di latte sul territorio nazionale, senza doverlo acquistare all’estero. Originariamente con il Decreto del 24 luglio 2003, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale n. 179 del 4 agosto 2003 che ha esteso la scadenza del latte fresco pastorizzato e del latte fresco pastorizzato di Alta Qualità a sei giorni più il giorno del trattamento termico, la scadenza del microfiltrato è stata portata a 10 giorni più il giorno del trattamento termico. Quest’ultimo decreto è stato poi abrogato dal Decreto 27 maggio 2004 del Ministero delle Attività Produttive e la successiva legge n. 204/2004 dell’agosto dello stesso anno ha confermato i sei giorni per il pastorizzati, per quelli a lunga conservazione rimane la normativa vigente e per gli altri tra i quali il microfiltrato e l’alto pastorizzato rimanda alla responsabilità del produttore. Il 17 di ottobre del 2006 la Corte di Giustizia dell’UE ha chiesto all’Italia di abrogare la legge 204/2004, quindi in futuro non si sa come evolverà questo aspetto. Nel frattempo, dopo diverse battaglie legali, è stata cambiata la denominazione da *latte fresco microfiltrato* solo con *latte microfiltrato*.

### **3. Alto pastorizzato**

Con il D.P.R. 14 gennaio 1997, n. 54 recante attuazione delle direttive 92/46 e 92/47/CEE in materia di produzione e immissione sul mercato di latte e di prodotti a base di

latte, il legislatore ha introdotto la possibilità di produrre un latte pastorizzato trattato ad una temperatura superiore enunciando: “è tuttavia autorizzata la fabbricazione di latte pastorizzato che presenti una reazione negativa della prova delle perossidasi, a condizione che sulle confezioni figuri un’indicazione del tipo: “*pastorizzato a temperatura elevata*” ed aggiunge “*Il latte pastorizzato a temperatura elevata, ... possono essere prodotti a partire da latte crudo che abbia subito una termizzazione od un primo trattamento termico in un altro stabilimento. In questo caso il «tempo-temperatura» deve essere inferiore o pari a quello utilizzato per la pastorizzazione ed il latte deve presentare una reazione positiva alla prova della perossidasi, prima del secondo trattamento...*”.

Il primo latte messo in commercio su vasta scala utilizzando questa deroga, è stato prodotto da gruppo Granarolo. Questo latte ha una durata di circa 10 giorni anche se si è osservata una durata decisamente superiore. La battaglia legale già accennata, si è scatenata proprio tra i produttori di questo latte e quelli del microfiltrato Parmalat e probabilmente si è conclusa con un “pareggio a tavolino!”. Anche per questo tipo di latte la scadenza è definita su responsabilità del produttore.

#### **4. Pascalizzazione**

La tecnica si basa sul noto principio di Pascal per il quale, una pressione esercitata su un punto qualsiasi di un dato sistema (ad esempio un corpo d’acqua), si distribuisce in modo uniforme in tutte le sue parti. Impiegata da tempo in varie attività industriali, in questi ultimi tempi ha trovato, specie in Giappone, utilizzo in campo alimentare nella produzione industriale di alcuni alimenti come gelatine, succhi, confetture ed è stata anche sperimentata con un certo successo, compatibilmente al costo, nel latte e derivati.

La pascalizzazione fa uso di altissime pressioni (tra 1000 e 15000atm)fatte agire a temperatura ambiente(cioè spiega il termine di sterilizzazione a freddo) su prodotti termosensibili, confezionati e sigillati in contenitori flessibili inseriti in una camera iperbarica, dove la pressione è prodotta da una pompa idraulica.

Secondo Cuoghi la pascalizzazione, oltre a mantenere invariate le caratteristiche organolettiche, comporterebbe maggiore sicurezza sanitaria con una drastica diminuzione di patogeni come salmonella, listeria, stafilococchi, dei butirrici e dei coli, aumentandone anche la conservabilità. Risulta particolarmente efficace contro i Gram negativi ed utilizzando la pressione fino a 5000/6000atm anche molti Gram positivi e spore possono essere facilmente distrutti. È efficace anche per *Clostridium botulinum*.

Alcuni autori hanno rilevato che con pressioni di 3000atm avvenga, inoltre, una denaturazione reversibile della componente enzimatica, irreversibile intorno a 5000atm.

Controverso risulta però il comportamento delle caseine e dei lipidi. Le prime subiscono fenomeni di dissociazione e riassociazione che portano conseguenze per la caseificazione (ma non per il latte alimentare), i secondi subiscono cristallizzazione anche a basse temperature (Del Bono 1997).

## **5. Battofugazione**

Questa tecnologia permette di rimuovere le spore della microflora psicrotrofa e altri microrganismi che non sono eliminati con la pastorizzazione a 72°C per 15s. È stata messa a punto in alcuni caseifici europei, possiede una buona efficienza di chiarificazione rimuovendo spore formate da *Clostridia spp.* responsabili del gonfiore del formaggio.

Questi processi sono stati adattati per la chiarificazione delle bevande a base di latte per rimuovere le spore aerobiche in particolare di *Bacillus spp.* che sono di grande interesse nell'estensione della shelf-life del latte perché termostabili e attive dopo la pastorizzazione.

Alcuni differenti approcci, sono stati presi in applicazione dell'uso della centrifugazione batterica per rimuovere questi batteri. In tutti i casi il latte è riscaldato a 55°C e separato dalla crema in un separatore convenzionale. In qualche impianto, solo il latte scremato viene sottoposto alla chiarificazione e poi riunito con la crema fino a raggiungere il tenore di grasso desiderato.

In altri, la crema omogenizzata, è aggiunta prima al latte scremato, per poi passare al "bacterial clariflor" insieme prima della normale pastorizzazione(Gordon, 1995).

## **5. Latte biologico**

Dal 2000 è entrata in vigore la regolamentazione (CE) per i prodotti *biologici di origine animale*. Sullo scaffale, al fianco dei latti tradizionali si può trovare anche il latte di produzione biologica. Questo latte deve provenire da animali allevati secondo il Regolamento (CE) 1804/98. Il Regolamento citato in precedenza recepito in Italia nel 2001 impone agli allevatori, di allevare gli animali in ambienti tali da fornire ampie superfici a disposizione, garantire il pascolo, almeno durante un periodo fisiologico ed alimentare gli animali con foraggi da agricoltura biologica, ottenuti senza l'uso di prodotti chimici di sintesi ed in assenza di organismi geneticamente modificati (O.G.M) rispettando un rapporto foraggi/concentrati sulla sostanza secca ingerita pari a 60/40%. Quando si acquista un latte biologico è importante infatti, assicurarsi che sulla confezione ci sia il nome dell'organismo

che certifica la “*biologicità*” del prodotto, cosa molto importante, in quanto la sua presenza è obbligatoria per legge ed è un’efficace garanzia di qualità.

Il latte biologico deve derivare da animali alimentati biologicamente, quindi senza alimenti geneticamente modificati, senza mangimi addizionati con alcali, antibiotici, composti azotati non proteici. È vietato somministrare sostanze conservanti, urea, aminoacidi e sostanze coloranti di origine sintetica.

## **6. Latte crudo**

La legge 3 maggio 1989, n.169, recante "disciplina del trattamento e della commercializzazione del latte alimentare vaccino", vieta l'immissione al consumo di latte crudo, salvo che venga venduto direttamente dal produttore al consumatore nella stessa azienda agricola di produzione, secondo quanto previsto dal regolamento CEE 29 giugno 1971, n.1411.

Ai sensi del D.P.R. 14 gennaio 1997, n. 54, si intende per «latte crudo» il latte prodotto mediante secrezione dalla ghiandola mammaria di vacche, pecore, capre o bufale, non sottoposto ad una temperatura superiore a 40 °C né ad un trattamento avente effetto equivalente. Per quanto riguarda il latte crudo di vacca destinato al consumo umano diretto ottenuto in aziende di produzione, è soggetto all'autorizzazione sanitaria di cui all'articolo 2, della legge 30 aprile 1962, n. 283, e successive modifiche. Il latte crudo, deve essere conforme a quanto previsto dall'articolo 3, comma 1, accompagnato durante il trasporto dalle aziende di produzione agli stabilimenti di trattamento da un documento commerciale recante l'identificazione dell'azienda di produzione, dal quale; deve possedere i requisiti microbiologici, refrigerato e confezionato come previsto dalla legge e presso stabilimenti riconosciuti. Ai fini dell'etichettatura deve riportare chiaramente la dicitura «latte crudo».

La vendita diretta di latte crudo è un fenomeno in grande espansione. Il latte munto alla stalla viene filtrato e refrigerato, cioè portato a una temperatura compresa tra 0 e 4 °C e poi distribuito tramite dei distributori automatici self-service. Le bottiglie si possono trovare sul posto oppure portare da casa. Non subisce nessun trattamento termico (pastorizzazione o sterilizzazione), né omogeneizzazione; si consuma quindi al naturale.

Sotto il profilo del gusto, è ricco di grasso non omogeneizzato, quindi più saporito del latte confezionato, inoltre indubbe sono le qualità nutrizionali di questo latte che non subisce nessun decadimento delle sostanze termosensibili presenti.

Esiste anche un vantaggio ambientale: si saltano molti passaggi di imbottigliamento e trasporto ed è questo il motivo per cui il latte crudo ha un costo contenuto, massimo 1 €/l.

Per poter essere messo in commercio, l'azienda che lo produce deve garantire standard igienici particolarmente restrittivi, perfino superiori al latte ad alta qualità.

Il latte crudo costituisce una ulteriore via a vantaggio di chi non si accontenta delle offerte già presenti nei negozi e nei supermercati e vuole invece gustare latte freschissimo tutti i giorni. Una possibilità che risulta limitata dalla difficoltà di raggiungere le aziende agricole e le stalle, che però inizia ad essere superata con l'installazione dei distributori automatici di latte crudo anche nei centri abitati e nelle grandi città come Milano dove sono peraltro già presenti in ben sette paesi dell'hinterland e in molti comuni delle regioni soprattutto del nord Italia. La diffusione capillare delle macchinette del latte potrebbe anche essere importante per frenare il calo che si è verificato nei consumi di un alimento essenziale per la dieta, soprattutto nelle giovani generazioni. La ricerca di nuovi canali rappresenta anche una risposta degli allevatori alle difficoltà di mercato che sta attraversando il settore dei bovini da latte dove, a differenza di quanto avviene al consumo, il prezzo riconosciuto alla stalla è in continuo calo su livelli di cinque anni fa che spesso non coprono neanche i costi costringendo molte stalle a chiudere.

Nelle scuole svedesi e del UK è usato il "milkbar"(Fig.2). Agli studenti è fornito un latte con proprietà nutrizionali intatte eliminando anche l'uso dei poliaccoppiati, non riciclabili.



**Fig.2 Distributore di latte crudo in una scuola svedese.**

Recentemente, la Conferenza Stato-Regioni, ha sancito un'intesa che fissa le procedure igienico-sanitarie, tecniche, di commercializzazione, di registrazione e di controllo del latte alimentare crudo, al fine di armonizzarle sul territorio nazionale (Anonimo, 2007).

## PARTE TERZA

### III.1 IL SIERO DI LATTE

Su siero e sieroproteine ci si soffermerà un poco in quanto, quest'ultime, rapportate alla quantità di proteine totali, rappresentano un'espressione legale della qualità dei lattini freschi. La prima citazione di un prodotto dell'artigianato caseario, *Il Seras*, risale all'anno 1267-68, è riportata nel volume della Miscellanea Valdostana in un elenco dei cespiti di reddito del feudo di Chatel-Argent a Villeneuve. In questo documento *Il Seras* è citato in lingua latina "seracei" ed è da ritenersi importante perché riportato ai primi posti del lungo elenco dei prodotti del feudo. Il nome "seras" deriva da serum (siero) "sottoprodotto" della lavorazione del latte intero dopo aver ottenuto il formaggio. Il siero si faceva precipitare al fuoco e condensato si comprimeva in pani quadrangolari, ed era considerato un buon alimento presente sulla tavola non solo dei contadini ma anche dei signori del feudo.

#### III.1.1 COMPOSIZIONE

Il siero è un liquido giallo-verdastro che resta nella caldaia dopo la separazione della cagliata. A seconda della tecnologia usata il siero è dolce (cioè a bassa acidità) oppure, acido; inoltre si distingue, in relazione all'origine del latte, in siero ovino, bufalino, vaccino ecc.

Il siero contiene tutti gli elementi solubili del latte che non hanno partecipato direttamente alla coagulazione, principalmente il lattosio, le sieroproteine e i sali solubili, unitamente al grasso in misura tanto maggiore quanto più pronunciata è stata la lavorazione della cagliata. Il suo peso specifico a 15°C è pari a 1,025-1,030 e il suo pH è generalmente acido essendo in funzione della tecnica di lavorazione del latte. La composizione indicativa del siero di latte vaccino è riportata in tabella 1 ed è soggetta a variazioni in funzione di numerosi fattori quali: l'alimentazione dei bovini, la razza, la fase di lattazione, il tipo di formaggio, la tecnologia utilizzata per produrlo ecc. (Sciancalepore, 1998).

**Tab. 1** Composizione indicativa del siero di latte vaccino espressa in percentuale di massa (Sciancalepore, 1998).

	Siero dolce	Siero acido
Acqua	93,7	93,5
Estratto secco totale	6,3	6,5
Sostanze azotate totali	0,8	0,7
Lattosio	4,8	4,2
Grasso totale	0,5	0,4
Sali minerali	0,7	0,8
Acido lattico	0,1	0,4

Il principale costituente del residuo secco del siero è il lattosio, presente in maggiore percentuale nel siero dolce. L'acido lattico contenuto nel siero deriva dalla fermentazione del lattosio e si ritrova in percentuale maggiore nei sieri provenienti dalla caseificazione dei formaggi a pasta fresca rispetto ai sieri di formaggi a pasta cotta, ottenuti prevalentemente per coagulazione presamica del latte.

Fra le sostanze minerali ricordiamo il calcio e il fosforo, il cui tenore dipende soprattutto dal tipo di coagulazione del latte: il tasso di mineralizzazione del siero proveniente dalla coagulazione presamica è notevolmente inferiore a quello riscontrabile nel caso di coagulazione lattica; l'acido lattico infatti esercita un'azione solubilizzante sul calcio e sul fosforo che fanno parte del complesso caseinico. Il processo di caseificazione influenza anche il tenore di grasso e di acido lattico; il siero sarà più ricco di questi elementi se proviene da lavorazioni da latte intero, specialmente se a cottura molto spinta.

I componenti pregiati del siero sono i grassi e le sieroproteine.

### **III.1.2 LE SIEROPROTEINE**

Le sieroproteine sono le sostanze non dializzabili contenute nel siero isoelettrico (ottenuto dopo la precipitazione della caseina a pH 4,6) e nel siero da caglio (contenente anche il caseino-glicopeptone). Sono precipitate quasi interamente dall'acido tricloroacetico 12% salvo una parte delle glicoproteine. Tranne i proteoso peptoni, tutti gli altri costituenti sono denaturati dal calore intorno ai 100°C. La sintesi avviene in parte a livello della ghiandola mammaria, mentre alcune hanno origine sanguigna.

Le proteine del siero, formano una frazione complessa che rappresenta il 17% circa delle sostanze azotate del latte di vacca (caseina 25 g/l ca.; sieroproteine 7,0 g/l ca.)

Le sieroproteine sono presenti nel latte come monomeri o polimeri e sono costituite da albumine per il 70%, da globuline per il 15%, da proteoso-peptoni per il 10%, e da metalloproteine per il 5%. A loro volta le albumine sono costituite da  $\beta$ -lattoglobulina 45%,  $\alpha$ -lattoalbumina 15%, albumina del siero di sangue 10%. Le globuline sono formate da euglobuline 7,5% e pseudoglobuline 7,5% e comprendono anche le immunoglobuline.

I proteoso peptoni sono sostanze glicoproteiche che hanno una grandezza molecolare intermedia tra proteine e peptidi; precipitano in gran parte con acido tricloroacetico 12% e non dializzano, ma si distinguono dalle precedenti perché non precipitano con riscaldamento a 95-100°C. Le frazioni di proteoso peptoni considerate attualmente sono: la "Componente 3"

considerata una glicoproteina originale, ed altre tre che invece sono frammenti della caseina  $\beta$  la “Componente 5”, la “Componente 8.lento” e la “Componente 8.rapido”.

Le metalloproteine sono delle proteine che formano dei legami metallo-proteina molto stabili ma reversibili e rivestono un ruolo fondamentale nel trasporto dei metalli nell'organismo. La lattoferrina ha un'affinità per lo ione ferrico maggiore della transferrina sanguigna ed interviene nell'introduzione del ferro nel latte a partire dal sangue; la transferrina proviene dal sangue e si ritrova in quantità circa uguali nel latte; la Ceruloplasmina fissa specificatamente il rame ed interviene nella mobilitazione del ferro da parte della transferrina (Alais, 2000).

La seguente tabella mostra le proporzioni e le principali proprietà di queste proteine.

**Tab. 2 Principali proteine del siero di latte di vacca (Alais, 2000).**

Gruppo	% del totale	Caratteristiche di solubilità			
		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1/2sat.	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 12%	TCA 4%	Riscaldam. 100°C
Proteoso peptone PP	19	sol.	insol.	sol.	sol.
Globuline G	13	insol.	sol.	insol.	insol.
Albumine A	68	sol.	sol.	insol.	insol.
		Costituenti elettroforetici (*)		Mobilità	Origine
G	13	euglobuline		-1,7	sanguigna
G		pseudoglobulina		-2,4	sanguigna
PP	4,6	composto III		-2,8	(?)
A	19,7	$\alpha$ -lattoalbumina		-3,6	mammaria
PP	8,6	composto V		-4,5	(?)
A	43,7	$\beta$ -lattoglobulina		-4,9	mammaria
A	4,7	sieroalbumina		-6,5	sanguigna
PP	5,7	composto VIII		-7,8	(?)

(\*) Da Larson et Roller (1995): mobilità a pH 8,6; forza ionica 0,1.

### III.1.3 PRODUZIONI E DESTINAZIONI

Nella produzione di formaggi, caseina e burro si genera siero di latte che costituisce l'80-90% del volume di latte trasformato. Il 95% della produzione mondiale annua di siero di latte proviene dalla lavorazione dei formaggi; Dalla produzione di 1 kg di formaggio si ottengono circa 9 litri di siero a partire da 10 litri di latte.

Le produzioni mondiali di formaggio secondo le fonti FAO, EUROSTAT sono state per l'anno 2000 pari a 15.751.000 tonnellate, questo significa che le produzioni di siero per lo stesso anno sono state di 141.759.000 tonnellate. In Europa i valori per le produzioni di formaggi dello stesso anno sono di 6.231.000 t di cui 969.700 t dall'Italia; le quantità di siero che ne derivano sono rispettivamente di 56.079.000 t e di 8.727.300 t.

E' interessante notare che le importazioni del siero di latte fra l'anno 1999 e l'anno 2000, sono aumentate del 11,3% raggiungendo le 44.468 t per un giro d'affari di circa 32.000.000 di Euro. Le esportazioni sono al contrario diminuite dello 0,8% a fronte di quelle di formaggio che al contrario sono cresciute del 5%. Se ne deduce che il siero che comunque ne deriva è impiegato nel nostro paese più dell'anno precedente. (Elaborazioni su dati ISTAT, EUROSTAT, e FAO pubblicati per l'anno 2000).

Si intuisce, quindi, come la sua utilizzazione ed il suo smaltimento rappresentino uno dei maggiori problemi dell'industria lattiero casearia. A causa dei suoi componenti, il siero costituisce un grave problema di contaminazione quando viene riversato nei corsi d'acqua, poiché genera una richiesta biochimica di ossigeno (BOD) molto alta, da 40.000 a 60.000 ppm, ed una domanda chimica di ossigeno (COD) da 50.000 a 80.000 ppm (più del 90% di questa domanda si deve al lattosio) (Ben Haossan, 1994), (Fournier et All., 1993).

Il carico inquinante del siero supera largamente i limiti legali per gli scarichi industriali stabiliti dalla legge Merli 319/76, attestati a 40-80 mg/l per il BOD e 160 mg/l per il COD, questo implica che il siero, prima di essere eliminato come refluo, necessita di trattamenti di bonifica. I vari sistemi di depurazione proposti (aerobi e anaerobi) non trovano applicazione pratica perché risultano scarsamente efficaci, piuttosto costosi, e non permettono il recupero delle componenti del siero ad alto valore biologico (Sciancalepore, 1998).

La soluzione più logica, proprio per le sue qualità, è comunque rappresentata dal recupero del siero ed un suo utilizzo nei vari settori dove è crescente la sua richiesta.

Le più tradizionali utilizzazioni del siero sono rappresentate in primo luogo dall'alimentazione per suini, privilegiata grazie soprattutto all'abbinamento molto diffuso caseificio-allevamento suino; poi dalla produzione di ricotta, in parte fresca per il consumo locale e la restante come ricotta salata, più adatta alla commercializzazione.

Nel periodo medievale la ricotta, considerata il formaggio dei poveri, era un alimento molto diffuso e apprezzato anche perché forniva nutrienti a basso prezzo. Col passare degli anni oltre a rappresentare un ingrediente nella produzione dei formaggi fusi, è stata

considerata come un vero e proprio formaggio da tavola dal momento che rappresenta un prodotto fresco, facilmente digeribile e ricco di amminoacidi di elevato valore biologico.

Anche il burro di siero rappresenta una delle più tradizionali destinazioni del siero di latte; questo burro si differenzia da quello ottenuto dalla crema di latte per la presenza di differenti caratteristiche organolettiche e risulta essere particolarmente idoneo per la cottura degli alimenti (Sciancalepore, 1998).

La necessità di trarre massimo vantaggio economico possibile dall'attività zootecnica basata sulle produzioni del latte, unita con l'efficienza delle moderne tecnologie applicabili al settore alimentare, ha portato a considerare con rinnovato interesse tutti i potenziali impieghi del siero in funzione delle specifiche proprietà funzionali illustrate in tab. 3.

<b>Proprietà</b>	<b>Caseine</b>	<b>Proteine del siero</b>
<b>SOLUBILITÀ</b>	Insolubili a p H 4.6	Molto solubili a tutti i pH. Insolubili a p H 5 se termodenaturate.
<b>VISCOSITÀ</b>	Soluzioni molto vischiose a p H neutro alcalino. Viscosità minima al punto isoelettrico.	Soluzioni poco vischiose, salvo che quando denaturate col calore..
<b>IDRATAZIONE</b>	Elevata riduzione di acqua con formazione di colla alle alte concentrazioni.	La ritenzione di acqua aumenta con denaturazione.
<b>GELIFICAZIONE</b>	Nessuna gelificazione termica salvo che in presenza di calcio. Gelificazione delle micelle per azione della chimasi.	Termogelificazione a partire da 70°C con influenza del p H e dei sali.
<b>PROPRIETÀ EMULSIONANTI</b>	Eccellenti proprietà emulsionanti, sopra tutto a p H neutro e alcalino.	Buone proprietà emulsionanti salvo a p H 4 e 5 se vi è denaturazione.
<b>PROPRIETÀ SCHIUMOGENE</b>	Buon accrescimento di volume, ma debole stabilità della schiuma.	Buon accrescimento di volume, ed eccellente stabilità della schiuma.
<b>RITENZIONE</b>	Buona ritenzione	Ritenzione molto variabile con lo stato di denaturazione.

**Tab. 3 Principali proprietà funzionali delle proteine del latte (Lorient et All., 1991).**

Come prima osservazione si può rilevare che le proteine del siero, che allo stato nativo sono solubili al punto isoelettrico, per questa stessa proprietà e per la presenza di gruppi sulfidrilici nelle loro molecole, possono formare gel a seguito di denaturazione per trattamento termico. Inoltre già allo stato nativo possiedono buone proprietà schiumogene ed emulsionanti che ne determinano il loro impiego in varie preparazioni alimentari.

Grazie a processi di microparticolazione (Pasquin et All., 1993) (Querro, 1994) delle proteine, è possibile ottenere concentrati di sieroproteine chiamati “fat replacer”; questi prodotti permettono la preparazione di sospensioni con proprietà funzionali simili a quelle dei grassi ed olii quando impiegati nelle emulsioni. Questi sostituenti del grasso a base proteica possono essere impiegati nella preparazione di maionese “light” con caratteristiche sensoriali soddisfacenti (Nicoli et All., 1994).

Altre sperimentazioni hanno mirato ad abbassare il tenore di grasso sul mascarpone miscelando il prodotto tradizionale con siero di latte scremato e pastorizzato. I risultati hanno dimostrato che fino ad un abbassamento al 36 % di grasso rispetto a quello di partenza di 57%, è possibile ottenere un prodotto con caratteristiche organolettiche simili al mascarpone (Sensidoni et All., 1993). Attualmente sono allo studio interessanti possibilità di utilizzo delle proprietà funzionali delle proteine del siero per migliorare la stabilità dei burri leggeri con polveri di siero (Corradini et All., 1993) o con concentrati di siero proteico (Pittia et All., 1993). Ulteriori studi (Shimizu et All., 1989) hanno evidenziato che le proprietà emulsionanti e schiumogene sono essenzialmente attribuibili alla frazione dei PP3 dei proteso peptoni. A questo punto si può ritenere che l'estrazione e la purificazione del PP3 in quantità tecnologicamente significative potrebbe permettere di ottenere un agente emulsionante che, in minime dosi, potrebbe esercitare un'azione stabilizzante le emulsioni. Questo ha un'importanza notevole visto che i limiti riscontrati nell'impiego, nei burri leggeri, delle polveri e dei concentrati proteici sono proprio le elevate quote di materia secca non proteica.

Queste ultime considerazioni sono un esempio delle interessanti prospettive che si aprono nell'utilizzo delle proprietà funzionali delle sieroproteine grazie alle nuove tecnologie oggi disponibili per la loro separazione dalla matrice latte o siero e per la possibilità di ottenere peptidi con esaltate funzioni specifiche per successivi trattamenti, quali ad esempio alcuni processi enzimatici (Corradini, 1998).

La tabella 4 riporta alcuni processi tecnologici per ottenere derivati proteici ed i relativi impieghi possibili in base alle specifiche proprietà funzionali.

Prodotti	Processi	Impieghi suggeriti
Caseina $\beta$	1)Microfiltrazione(MF) del caseinato a freddo 2)MF/acidificazione del latte a freddo 3)Coagulazione a freddo del caseinato di calcio	Agente schiumogeno Agente funzionale In formaggi Sorgente di peptidi bioattivi
Caseina privata della caseina $\beta$	Prodotti derivati dalla separazione della caseina (procedimento 1)	Ingredienti da aggiungere al latte per formaggio Agenti emulsionanti
Paracaseinato di calcio privato di caseina $\beta$	Prodotti derivati dalla separazione della caseina (procedimento 3)	Agenti funzionali o ingredienti per formaggi fusi o d'imitazione.
Caseina micellare	a)Retentato da MF del latte b)Coagulo dopo demonizzazione e acidificazione per elettrodialisi	Standardizzazione del latte Agente funzionale per prodotti alimentari
WPC sgrassato	Permeato da MF del siero	Agente schiumogeno
Fosfolipidi del latte	Retentato da MF del siero	Agente emulsionante
Frazione ricca di $\alpha$ -lattalbumina	Precipitata selettivamente con correzione della forza ionica e del p H del siero	Proteine per alimenti per l'infanzia
$\beta$ -lattoglobulina	Supernatante ottenuto dal processo soprani portato di preparazione della $\alpha$ lattalbumina	Agente emulsionante Agente gelificante
WPC con diverse proporzioni di $\alpha$ lattalbumina e $\beta$ lattoglobulina	Selettivi adsorbimenti ed eluizioni per scambio ionico	Agenti schiumogeni e gelificanti
Isolato di proteine del siero	Scambio ionico	Agente emulsionate-gelificante. Chiarificante di soluzioni

Tab. 4 Processi atti ad ottenere derivati proteici del latte con possibilità di impiego per le specifiche proprietà funzionali (Donnelly et All., 1993).

Altri interventi tecnologici vengono utilizzati per esaltare o deprimere le proprietà funzionali originarie delle sieroproteine (tab. 5) che verranno utilizzate nei diversi impieghi riportati brevemente in tabella 6.

Processo	Proprietà funzionali			
	Solubilità	Capacità Emulsionante	Capacità idratante	Potere Gelificante
Demineralizzazione	-	-	-	+
Trattamenti Termici	-	+/-	-	+
Ultrafiltrazione	-	+	-	+

Tab. 5 Effetti di alcuni interventi tecnologici sulle proprietà funzionali delle SP (Donnelly et All., 1993).

<b>Trattamenti</b>	<b>Proprietà funzionali</b>	<b>Applicazioni</b>
<b>Nessuno</b>	Elevata solubilità Elevato potere nutrizionale Capacità d'idratazione Capacità di abbassare l'Aw	Bevande, sciroppi Alimenti per l'infanzia Alimenti fortificati IMF (derivati di carne, pesce, prodotti da forno, latticini, alimenti light)
<b>Demineralizzazione</b>	Elevato potere gelificante Elevata capacità emulsionante Bassa solubilità Bassa capacità d'idratazione	Derivati di carne, pesce, latticini, dessert
<b>Denaturazione termica</b>	Elevato potere gelificante Elevata capacità emulsionante Bassa solubilità Bassa capacità d'idratazione	Derivati di carne, pesce, latticini, dessert, salse, condimenti, prodotti da forno
<b>Ultrafiltrazione</b>	Elevato potere gelificante Elevata capacità emulsionante Bassa solubilità Bassa capacità d'idratazione	Derivati di carne, pesce, latticini, dessert, salse, condimenti, prodotti da forno

**Tab. 6 Trattamenti tecnologici in grado di modificare specifiche proprietà funzionali delle sieroproteine in relazione al loro impiego (Corradini, 1998).**

## **III.2 PARTE SPERIMENTALE**

### **III.2.1 MATERIALI E METODI CHIMICO ANALITICI**

Il lavoro di analisi è stato preceduto da un'ampia ricerca bibliografica riguardante tutto il settore latte ed in particolare la frazione proteica ed i metodi per la sua determinazione. La ricerca, si è basata sulla consultazione di testi e riviste di settore e di più specifici articoli individuati all'interno del circuito CAB ed FSTA. La parte sperimentale è iniziata in seguito all'arrivo dello strumento FP-528 della Leco Italia. Lo strumento è stato collocato nell'Impianto Pilota del Dipartimento di Scienze Economiche-Estimative e degli Alimenti dell'Università degli Studi di Perugia.

L'installazione ha richiesto poche ore ed è stata eseguita da un tecnico specializzato, che ha provveduto anche ad effettuare le prime calibrazioni secondo le procedure riportate nel manuale, utilizzando standard internazionali di riferimento (v. par. specifico FP-528).

Per acquisire manualità con lo strumento e per verificare i tempi necessari per le indagini di nostro interesse sono state condotte delle analisi "prova" su latte pastorizzato, siero e cagliata. Dopo questa prima parte propedeutica si sono acquistati i quantitativi di latte necessari per portare a termine un ciclo di analisi di 20 giorni considerando di lavorare a giorni alterni. Nella determinazione proteica con il metodo Dumas si è creato un unico metodo di analisi sia per il latte che per il siero, calibrato con uno standard di glicina al 0,5 % di azoto. Alla luce dei risultati ottenuti si è ritenuto opportuno effettuare un secondo ciclo di

analisi, con indagini settimanali, della durata di 56gg in modo da garantire la positività assoluta alle prove di conservazione di tutte le tipologie di latte considerate. Per questo secondo ciclo d'indagini si sono creati due metodi di analisi uno, valido per il latte, calibrato con uno standard di glicina al 0,5 % di azoto (METODO LATTE) e l'altro, per il siero, calibrato con uno standard di glicina al 0,1 % di azoto (METODO SIERO).

**1. Primo ciclo:** le indagini sono state condotte su 4 tipologie di latte, riportate qui di seguito insieme alla data di scadenza:

- Latte intero fresco pastorizzato, data di scadenza: 20/09
- Latte fresco pastorizzato di alta qualità, data di scadenza: 20/09
- Latte microfiltrato, data di scadenza: 25/09
- Latte intero alto pastorizzato, data di scadenza: 28/09

Tutte le confezioni della stessa tipologia di latte presentano lo stesso lotto di produzione e la stessa macchina confezionatrice.

Il latte dopo l'acquisto è stato immediatamente trasportato al Dipartimento e stoccato in cella frigorifera a circa 4°C. Ogni giorno di analisi è stata aperta una nuova confezione per ogni tipo di latte, quindi per soddisfare la richiesta totale si sarebbero dovute acquistate 10 confezioni per ogni tipologia di latte. Per l'esigenza di unire latte della stessa tipologia, ma di due confezioni diverse, riducendo la probabilità di ottenere dati anomali per eventuali alterazioni della materia prima, si sono acquistate un totale di 80 confezioni invece che 40.

Per ogni latte, inoltre, si considerano altre due confezioni "scorta", per l'eventuale necessità di dover ripetere alcune prove.

Rispettando lo standard A.O.A.C. (AOAC, 1990), prima di procedere con le indagini giornaliere, ogni campione è stato portato alla temperatura di circa 20°C, accuratamente mescolato in modo da ottenere una dispersione omogenea del grasso e immediatamente pesato nei quantitativi richiesti dalle singole analisi.

Per prima cosa sono state effettuate le due prove di stabilità, all'alcool ed al calore, che hanno permesso in breve tempo di poter determinare lo stato di conservazione del latte; la positività totale a queste due prove è stata presa come riferimento per la sospensione delle analisi.

Nel caso di mancata coagulazione (negatività o parziale positività) si è proseguito con la determinazione della acidità di titolazione secondo la metodica che permette di

esprimere i risultati in °SH; in questo caso sono stati utilizzati 50 ml di campione, quindi per l'espressione dei risultati si è moltiplicato per due i ml di NaOH N/4 utilizzati per la titolazione.

Si sono poi misurati nel tubo da centrifuga, di peso noto, 50 ml di ciascun latte ai quali è stata aggiunta qualche goccia di acido cloridrico fino al raggiungimento di pH 4,6 necessario per la precipitazione della caseina.

I tubi sono stati posti in centrifuga programmata a 9000 giri per 15' per agevolare una rapida separazione fra cagliata e siero; la frazione liquida così ottenuta è stata filtrata fino ad ottenere un fluido limpido, raccolto in una beuta di peso noto.

La beuta con il siero ed il tubo con la cagliata sono stati pesati e mediante sottrazione delle rispettive tare si è risaliti al peso netto delle due frazioni di latte.

Dopo aver annotato i pesi, approssimati al millesimo di grammo, è stata effettuata la determinazione della sostanza secca e del contenuto proteico per il latte e le sue frazioni derivate: siero e cagliata.

La determinazione delle proteine è stata definita partendo dal contenuto di azoto totale risultante dai due metodi messi a confronto: Kjeldhal e Dumas.

La procedura sopra indicata è riassumibile in uno standard lavorativo riportato nel flow-sheet di processo (fig.1).

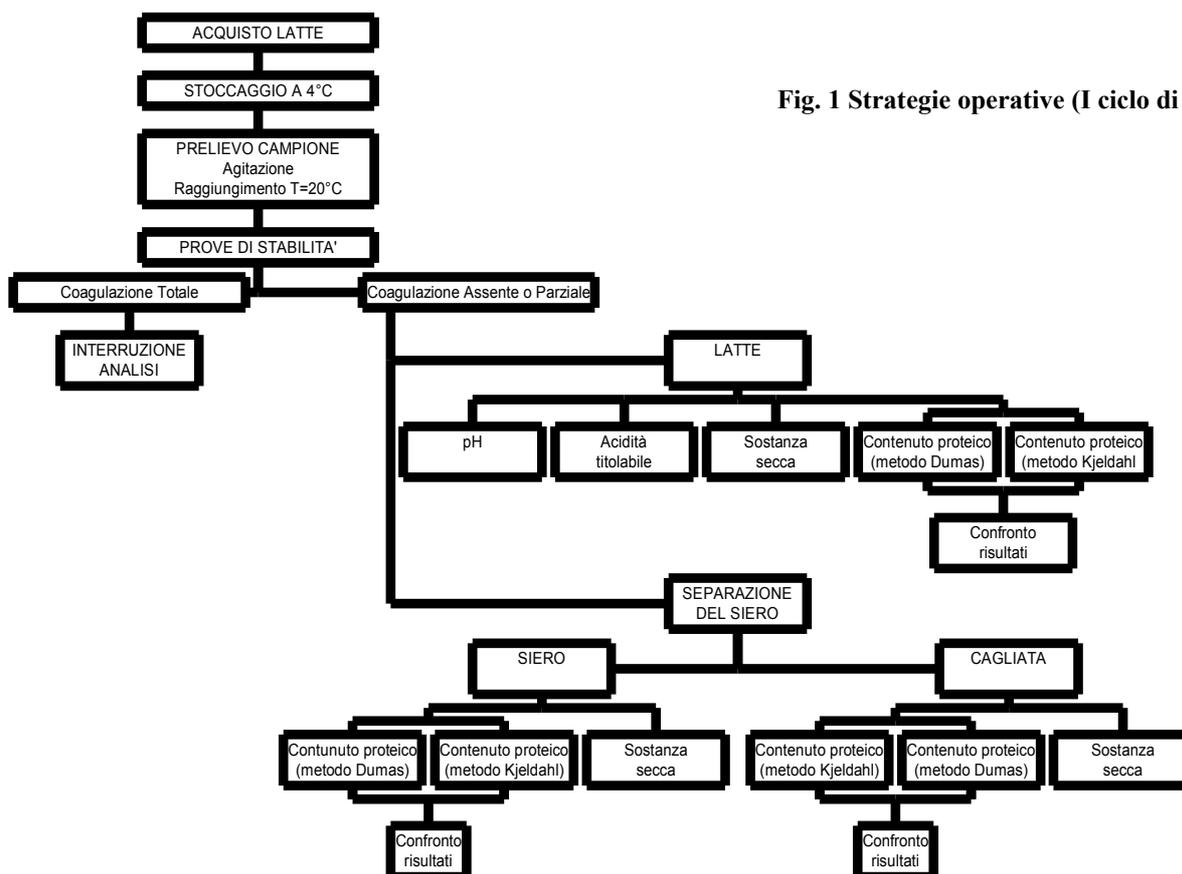


Fig. 1 Strategie operative (I ciclo di analisi)

**2. Secondo ciclo:** le indagini sono state condotte, anche in questo caso, su 4 tipologie di latte:

- Latte intero fresco pastorizzato, data di scadenza: 17-11
- Latte fresco pastorizzato di alta qualità, data di scadenza: 17-11
- Latte microfiltrato, data di scadenza: 19-11
- Latte intero alto pastorizzato, data di scadenza: 21-11

In questo caso però, dopo l'acquisto, il latte è stato immediatamente ripartito in bottiglie di vetro da 250 ml, quantitativo dimostratosi sufficiente per portare a termine tutte le analisi da effettuare in una giornata. (v. par. "preparazione dei campioni"). In questo modo è stato possibile acquistare un quantitativo di latte inferiore, infatti per effettuare il massimo delle prove programmate inizialmente, 8, si sono acquistati solo 2 litri per ogni tipologia di latte. Per ogni latte, inoltre, si considerano altre due confezioni "scorta", per l'eventuale necessità di dover ripetere alcune prove. I campioni di latte sono stati stoccati in cella frigorifera a 4°C circa, mentre quattro di questi sono stati utilizzati lo stesso giorno (giorno 0).

Le procedure di indagine sono uguali a quelle del primo ciclo con l'unica differenza che in questo caso la determinazione del contenuto di azoto nella cagliata è stata effettuata solo con il metodo Kjeldahl, mentre si è preferito analizzare il siero con due applicazioni diverse del metodo Dumas, D1 (Metodo Latte), D2 (Metodo Siero). La strategia operativa adottata per il secondo ciclo d'indagine è riassumibile in flow-sheet di processo (fig. 2).

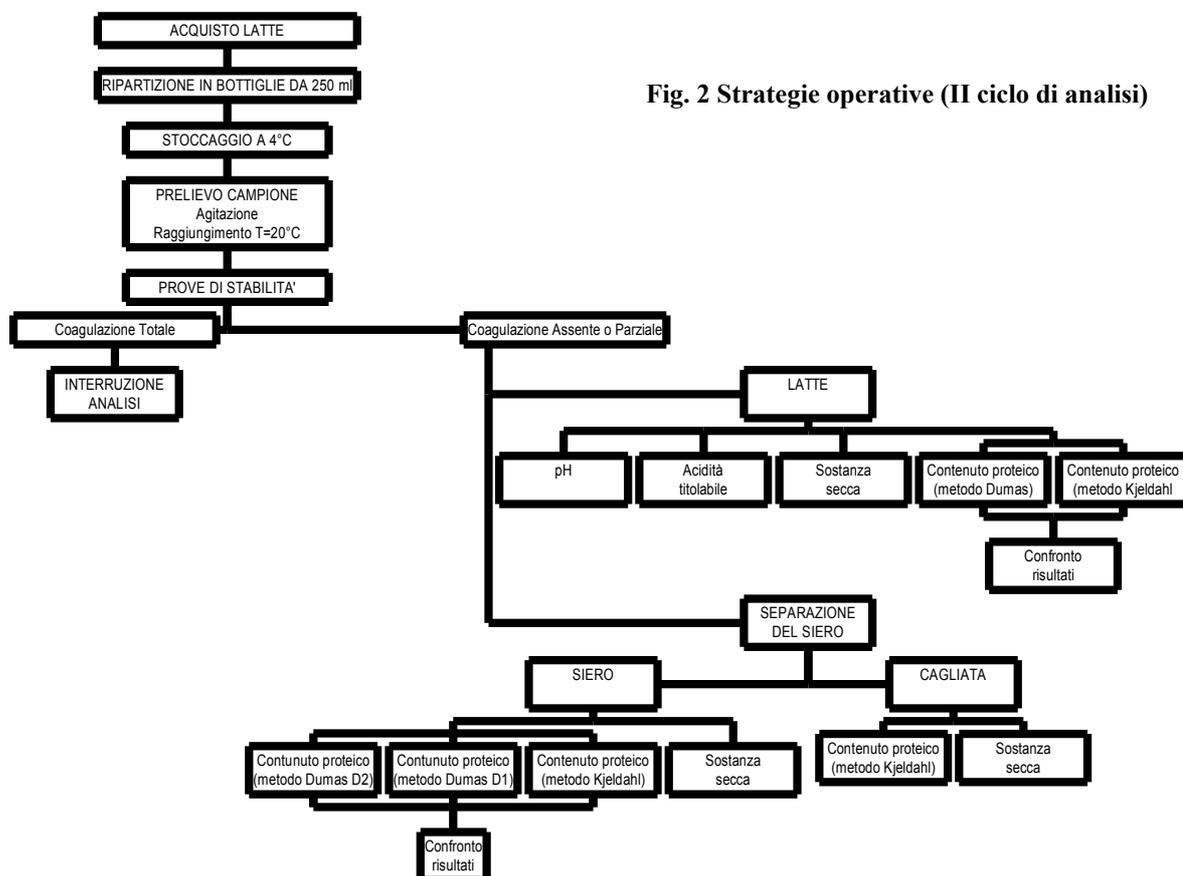


Fig. 2 Strategie operative (II ciclo di analisi)

Nella maggior parte dei casi i metodi riportati sono quelli pubblicati dalla A.O.A.C., dalla FIL-IDF, dalla Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana e dalla Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea. Sono anche utilizzati metodi non ufficiali, abitualmente adottati da diversi laboratori.

### **III.2.2 TECNICHE DI CAMPIONAMENTO E STOCCAGGIO DEI CAMPIONI (FIL-IDF, 1985)**

#### **1. Preparazione dei campioni**

I ciclo: Le confezioni di latte acquistate il giorno 0 sono state immediatamente stoccate in celle a circa 4° C.

II ciclo: Le confezioni di latte sono state acquistate tutte nel medesimo giorno e trasportate al laboratorio di analisi nel minor tempo possibile; dopo aver agitato accuratamente i contenitori per ottenere una sufficiente omogeneità, il latte è stato ripartito in 4 bottiglie di vetro da 250 ml ciascuna, precedentemente sterilizzate. Tali operazioni sono state eseguite vicino alla fiamma del bunsen ed utilizzando attrezzatura sterilizzata con alcool etilico al 70% allontanato per flambaggio. I contenitori sono stati poi stoccati in cella frigorifera a 4°C circa.

#### **2. Preparazione del campione sottoposto ad analisi**

Secondo lo standard A.O.A.C. (1990, n° 925.21) ogni campione è stato portato alla temperatura di circa 20°C, accuratamente mescolato in modo da ottenere una dispersione omogenea del grasso e immediatamente pesato nei quantitativi richiesti dalle singole analisi.

### **III.2.3 PROVE DI STABILITÀ O SAGGI DI FRESCHEZZA**

La shelf-life è il tempo che intercorre tra il confezionamento del prodotto ed il momento in cui diviene inaccettabile per il consumatore o utilizzatore.

I parametri sui quali si basa l'inaccettabilità del prodotto sono i seguenti:

- aumento della carica microbica psicofila;
- variazione dei caratteri organolettici;
- variazione chimiche e strutturali della componente proteica e lipidica;
- acidificazione;
- instabilità del latte all'aggiunta di diverse concentrazioni di etanolo;
- instabilità del latte al calore.

Queste due ultime condizioni sono determinabili con prove, che per semplicità e rapidità di esecuzione, sono facilmente realizzabili all'interno di qualsiasi laboratorio di

analisi e per questo adottate in molte centrali di latte e come prove di stabilità nel presente lavoro.

### **1. Prova all'alcool**

L'alcool in una certa quantità, favorisce la coagulazione del latte; con l'avanzare della conservazione di quest'ultimo, diminuisce la percentuale in volume d'alcool alla quale il latte coagula. La prova è stata effettuata a tre concentrazioni diverse di etanolo, 70, 75 e 80% secondo il procedimento seguente: in tre provette contenenti ciascuna 2 ml di latte, si è aggiunto un ugual quantitativo di alcool rispettivamente al 70%, al 75%, e all'80%; si è osservata la reazione del latte ed annotata l'avvenuta o meno coagulazione ad una, a due o a tutte e tre le prove. La prova è stata ripetuta finché non si è avuta la comparsa del coagulo anche con l'aggiunta della soluzione meno concentrata.

*Reagenti:* Etanolo al 70, 75 e 80%.

### **2. Prova al calore**

Con l'avanzamento della conservazione e quindi del grado di deterioramento, il latte giunge ad un punto tale che sottoposto ad ebollizione, anche per pochi minuti, coagula.

Per effettuare la prova di stabilità al calore sono stati effettuati tre controlli distanziati ogni cinque minuti d'ebollizione, 5', 10' e 15'. Per effettuare la prova, si sono misurati 5 ml, per ogni tipo di latte. Le provette contenenti il campione sono state poste per cinque minuti nel bagnomaria, quindi, con l'ausilio di una pinza si è controllata la presenza o meno del coagulo. In caso di assenza di coagulo i campioni sono stati riposti nel bagnomaria e ricontrollati al decimo ed al quindicesimo minuto. La prova è stata ripetuta finché il latte non è coagulato anche al tempo minimo di 5'.

Le analisi sono state effettuate in doppio per ogni tipo di latte sia per la prova all'alcool che per la prova al calore.

### **3. Acidità di titolazione (°SH) (Secchi, 1967)**

Per acidità si intende il risultato di una titolazione, ed il suo valore è espresso dai ml di una soluzione alcalina a titolo noto necessari a portare il pH di una determinata quantità di latte al pH di viraggio dell'indicatore fenoftaleina che passa dall'incolore al rosa raggiunto pH 8,4. L'acidità di titolazione è la somma di quattro reazioni; tre rappresentano l'acidità naturale del latte, che è equivalente in media a 18ml di soluzione normale (N/1) per un litro di latte, mentre l'ultima è acidità sviluppata dalla degradazione microbica del lattosio e dei lipidi nei lattini in via di alterazione.

- Acidità dovuta alla caseina (2/5 dell'acidità naturale).

- Acidità dovuta alle sostanze minerali e alle tracce di acidi organici (2/5 dell'acidità naturale).
- Reazioni secondarie dovute ai fosfati, “over run”, (1/5 dell'acidità naturale).
- Acidità dovuta all'acido lattico ed altri acidi nei latti in via di alterazione.

L'acidità di titolazione del latte può essere espressa in:

- gradi Soxhlet-Henkel (°SH)
- gradi Dornic (°D)
- gradi Thorner (°Pf Th)
- mg o g di acido lattico per 100ml o 100g di latte

Riferimenti bibliografici: (Alais, 2000), (Corradini, 1995).

*Reagenti:* Idrossido di sodio N/4; Fenofaleina: soluzione alcolica all'1%.

*Procedimento:* la titolazione è stata eseguita secondo la procedura che permette di esprimere l'acidità in gradi °SH che sono quelli maggiormente adottati nel nostro paese. I gradi °SH corrispondono ai ml di NaOH N/4 necessari per neutralizzare, fino al viraggio della fenofaleina, 100 o, come in questo caso, 50 ml di latte. Al latte, misurato correttamente con pipetta e contenuto in un beker, si aggiunge 1ml di fenofaleina e quindi si lascia cadere goccia a goccia da una buretta, agitando il latte nel beker, tanta soluzione di idrossido di sodio N/4, fino a colorazione rosea persistente. Per evitare cause di errore si è utilizzata sempre la stessa quantità di indicatore, e durante la titolazione si è tenuto, come confronto, un beker contenente la stessa quantità di latte non sottoposta a titolazione per evidenziare il punto di viraggio che normalmente non è netto e che tende a sparire in breve tempo per il fenomeno dell'over-run. Le analisi sono state effettuate in doppio per ogni tipo di latte.

*Espressione dei risultati:* il numero di ml di soluzione di idrossido di sodio N/4, letti sulla buretta, moltiplicati per due, esprime l'acidità del latte per 100 ml o il grado di acidità Soxhlet-Henkel (°SH).

#### **4. Concentrazione idrogenionica (pH) (Alais, 2000).**

Il latte normale presenta, anche allo stato fresco, una reazione leggermente acida, la quale è dovuta in parte alla incompleta neutralizzazione dei gruppi acidi della caseina e per il resto alla particolare composizione del suo sistema salino (presenza di fosfati e citrati acidi).

Infatti, mediante misure potenziometriche o a mezzo di indicatori, è agevole constatare che, allo stato fresco, il latte presenta una concentrazione idrogenionica espressa da valori del pH normalmente compresi fra 6,6 e 6,7 (Politi).

Il pH varia da una specie all'altra dal momento che ci sono delle differenze nella composizione chimica, principalmente in caseina ed in fosfati e non è costante neanche nella stessa specie poiché può variare nel corso della lattazione e in ragione dell'alimentazione.

*Reagenti per la taratura:* tampone fosfato M/15, pH 7,0, per la zona neutra; tampone ftalato acido di potassio M/20, pH 4,0, per la zona acida

*Apparecchiatura:* pH-metro, Radiometer Copenhagen, PHM 93;.

*Procedimento di misurazione:* il valore di pH è stato determinato mediante misura potenziometrica al pH-metro costituito da un sistema di due elettrodi: un elettrodo di riferimento al calomelano con cloruro di potassio saturo ed un elettrodo di vetro.

### III.2.4 ALTRE PROVE

#### 1. Separazione del siero

L'acidificazione del latte fino ad un pH di 4,6 determina una diminuzione delle funzioni acide ionizzanti della caseina con conseguente riduzione dell'affinità per il calcio che tende a solubilizzarsi; le submicelle, causa il relativo alto peso molecolare rispetto allo stato di idratazione, interagiscono tra loro flocculando (Corradini, 1995).

*Reagenti:* Acido cloridrico 6 N; reagenti previsti per la taratura del pH-metro.

*Apparecchiatura e strumenti:* bilancia analitica, Mettler, HR 200; pH-metro, Radiometer Copenhagen, PHM 93; centrifuga Hettich, Universal 32; filtri Whatman, Ø 12,5 mm, n.50

*Procedimento:* in 50 ml di latte, mantenuto in agitazione, è stata aggiunta qualche goccia di acido cloridrico fino a raggiungere il punto isoelettrico della caseina, pH 4.6, facilmente controllabile con l'utilizzo di un pH-metro; si è lasciata riposare per 10 minuti quindi si è controllato il pH e quando necessario si è aggiunto ancora acido. Ottenuto il pH desiderato si è centrifugato a 9000 giri per 15' in modo che il siero si separi dalla caseina in tempi ridotti. Per ottenere un liquido limpido è stato necessario filtrare il siero ottenuto dalla centrifugazione con un filtro Whatman; alla fine di queste operazioni si è ottenuta la cagliata rimasta nel tubo da centrifuga ed il siero, filtrato, che è stato raccolto in una beuta.

#### 2. Determinazione della sostanza secca (GUCE, 06/1992) (GUCE, 12/1992)

La sostanza secca è la quantità di materia che resta dopo il processo di essiccazione in stufa a 102 +/- 2°C, ed è espressa, convenzionalmente, in percentuale di massa.

*Apparecchiatura:* bilancia analitica, Mettler, HR 200; essiccatore; stufa di essiccazione, ventilata e termostata a 102°C; capsule a fondo piatto; bagnomaria bollente, VISMAR.

*Procedimento:* su una capsula, di peso noto, si sono pesati circa tre grammi di campione, latte, siero o cagliata; dopo una prima operazione di evaporazione su bagnomaria bollente, le

capsule sono state poste a essiccare in stufa a 102 °C fino a peso costante. Prima di procedere all'operazione di pesatura, si sono lasciate raffreddare le capsule in essiccatore a temperatura ambiente (almeno 30 minuti). Tutte le pesate sono state approssimate al decimo di mg.

*Espressione dei risultati:* il contenuto di materia secca è espresso come percentuale in massa, ed è dato dal rapporto della differenza fra il peso finale stabile e il peso della capsula, e la differenza fra il peso iniziale del campione ed il peso della capsula, moltiplicato per 100. Le analisi sono state effettuate in doppio per ogni campione di latte siero e cagliata.

Altri riferimenti bibliografici: (AOAC, 1990) (FIL-IDF, 1982)

### III.2.5 DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE AZOTATE

Per la determinazione del contenuto di Azoto nel latte si usano metodi analitici basati sulla composizione o su alcune proprietà dei costituenti protidici; ma poiché si tratta di un miscuglio, questi metodi non possono che dare una stima non solo per le sostanze azotate totali, ma anche per le tre grandi frazioni: caseine, proteine del siero e le sostanze azotate non proteiche. I metodi analitici utilizzati nel presente lavoro per stimare il contenuto proteico del latte, del siero e della cagliata sono il metodo Kjeldhal ed il metodo Dumas.

#### 1. Metodo Kjeldahl (FIL-IDF, 1993) (GUCE, 06/1992) (Codex, 1994)

Il sistema Kjeldahl fu applicato in campo alimentare per la prima volta dal danese Kjeldahl nel 1883, in una nota fabbrica di birra per controllare la qualità della materia prima (malto, luppolo) e del prodotto finito. Risulta comunque una metodica talvolta obsoleta e sicuramente lenta, rischiosa ed inquinante (De Noni, 2002).

*Principio:* si fa “digerire” una quantità nota dell'aliquota di analisi (circa 3 g per il siero e per il latte; circa 1,2 g per la cagliata) con acido solforico concentrato allo scopo di trasformare l'azoto dei composti organici in solfato di ammonio; per elevare il punto di ebollizione ed accelerare la digestione è utilizzato un catalizzatore costituito da una miscela di selenio e di solfati di potassio e di ferro. Per addizione di soluzione di idrossido di sodio si libera ammoniaca che è quindi distillata in una soluzione in eccesso di acido borico e determinata per titolazione, utilizzando una soluzione di acido cloridrico. Il calcolo del tenore di azoto si basa sulla quantità di ammoniaca prodotta.

*Reagenti:* tutti i reagenti sono di qualità analitica. L'acqua è distillata.

Acido solforico, almeno al 98% (m/m), ρ<sub>20</sub> 1,84 g/ml circa

Perossido di idrogeno

Pastiglia di catalizzatore (3,5g di K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> , 0,0035 Se)

Soluzione di idrossido di Sodio: 40g su 100ml di acqua distillata

Soluzione di acido borico: 40g di acido borico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) in 1l di acqua calda, lasciare raffreddare, aggiungere 3ml di soluzione dell'indicatore, miscelare e conservare in una bottiglia in vetro di borosilicato;

Indicatore: miscela di una dose di rosso di metile con 5 dosi della soluzione di verde bromocresolo;

Sol. di rosso di metile: 0,1 g di rosso di metile in 50 ml di etanolo al 95% (v/v);

Sol. di verde bromocresolo: 0,5 g di verde bromocresolo in 250 ml di etanolo al 95%;

Acido cloridrico, soluzione volumetrica standard;

*Apparecchiatura:* bilancia analitica, Mettler, HR 200; apparecchiatura per la digestione, per mantenere i tubi in posizione eretta in modo da non riscaldare i tubi al di sopra del livello del loro contenuto, e con dispositivo di estrazione dei vapori. Temperatura di digestione 350°C-400°C. "TECATOR-pbi international, modello Digestion system 6 1007 Digester"; apparecchiatura per distillazione, VELP scientifica modello UDK 130 A.

*Procedimento:* per il latte ed il siero si sono effettuate delle pesate di 3 g circa, mentre per la cagliata ad alta concentrazione proteica si sono pesati circa 1,2 g, con una precisione di 0,1 mg. I campioni così preparati sono stati posti nei tubi di vetro apposti insieme a 5 ml di perossido di idrogeno, 7 ml di acido solforico, e mezza pasticca di catalizzatore;

I tubi sono stati sistemati nell'apparecchiatura di digestione non appena raggiunti i 350°C e rimossi a fine digestione, circa due ore dopo, cioè quando si ha la formazione di una soluzione limpida. Dopo avere lasciato raffreddare il digerito a temperatura ambiente si è aggiunta acqua distillata in modo da rimuovere tutti i residui dal collo del tubo.

Il tubo contenente il digerito è stato quindi inserito nel distillatore, programmato per una distillazione di 6 minuti per ogni campione, e la soluzione raccolta in acido borico titolata con la soluzione volumetrica standard di acido cloridrico fino al viraggio dell'indicatore che passa da una colorazione verde al rosa. Infine si è effettuata la lettura sulla buretta con la precisione di 0,01 ml. Le analisi sono state condotte in doppio per ogni campione di latte, siero e cagliata.

*Espressione dei risultati:* il tenore di azoto è espresso come percentuale in massa:

$$\%N = \frac{14,008 \times M \times V}{10 \times m}$$

*M:* è la molarità esatta, espressa con l'approssimazione al quarto decimale, della soluzione volumetrica standard di acido;

*V:* è il volume, in ml, della soluzione volumetrica standard di acido, impiegata per la determinazione;

*m:* è la massa, in g, dell'aliquota dell'analisi.

Il tenore delle proteine totali, espresso in percento della massa, si ottiene moltiplicando il tenore in azoto per 6,38.

*Ripetibilità:* la differenza assoluta tra i risultati ottenuti per due differenti determinazioni, effettuate simultaneamente o in successione, nelle stesse condizioni, su campioni identici, non deve superare 0,006 g di azoto per 100 g di latte.

## **2. Metodo Dumas**

Dumas, Jean-Baptiste-André (N. Alais 15.7.1800-†Cannes 11.4.1884) era un chimico e uomo politico francese. Il suo nome è legato a un metodo per il dosaggio dell'azoto presente nelle sostanze organiche. Esso consiste nel far avvenire la combustione delle sostanze azotate, a 500 °C in presenza di ossido di rame, per far sviluppare azoto e ossido di azoto, oltre ad altri gas privi di azoto. L'ossido di azoto è ridotto ad azoto elementare e tutto il miscuglio di gas viene passato attraverso una soluzione di idrossido di potassio, che assorbe tutti i componenti gassosi che si sono prodotti, eccetto l'azoto. Questo può quindi essere misurato per via volumetrica (Dumas, 1831).

*Principio:* il metodo da noi utilizzato, parzialmente rivisitato in seguito all'utilizzo di un apparecchiatura semi automatizzata, si può ritenere composto da tre fasi: purificazione, combustione ed analisi vera e propria. Nella prima fase, dalla camera di combustione viene eliminata ogni traccia di aria atmosferica mediante una corrente di ossigeno. Nella seconda fase, una quantità nota di campione è bruciato con ossigeno puro alla temperatura di 900°C. Dopo la combustione, che è estremamente rapida (tra 15 e 30 sec.), i gas che ne derivano sono prima fatti passare attraverso un condensatore, dove la maggior parte dell'acqua è eliminata, quindi giungono in un serbatoio di raccolta volumetrica (ballast). Nella fase finale è prelevata un'aliquota dei gas contenuti nel ballast per l'analisi; la miscela gassosa è fatta fluire attraverso un sistema catalitico a base di rame per rimuovere l'ossigeno e convertire gli ossidi di azoto in azoto elementare. Infine, i gas sono fatti passare attraverso filtri selettivi contenenti Anhydrone e Lecosorb per eliminare rispettivamente l'acqua residua e l'anidride carbonica. L'azoto, unico gas rimasto assieme al gas di trasporto (He), viene rilevato grazie ad un detector a conducibilità termica che ne permette la misurazione.

Il metodo Dumas, a differenza del tradizionale metodo Kjeldhal, consente di determinare il contenuto di proteine di una varietà di prodotti in modo rapido ed economico.

*Reagenti:* Bombola di O<sub>2</sub> (purezza: 99,996% in volume)

Bombola di He (purezza: 99,996% in volume)

Bombola di aria compressa

Standards: Glicina 18,67 g N/100 (2 soluzioni al 0,1% di N e al 0,5% di N)

EDTA (acido etilendiaminotetracetico) 9,58 g N/100g

Filtri selettivi: Lecosorb (idrossido di sodio); Anidrone (perclorato di magnesio); lana di quarzo e lana di vetro.

*Apparecchiatura:* Bilancia analitica, Mettler, HR 200

F-528 strumento Leco, e software (per la descrizione v. cap.5)

Gilson, P-1000

Capsule e fogli di stagno

*Procedimento:* la determinazione dell'azoto è gestita autonomamente dal software che accompagna lo strumento FP-528. Prima di iniziare il ciclo delle analisi lo strumento è sottoposto ad una calibrazione strumentale (fase di installazione) ed alla creazione dei metodi di riferimento da adottare durante l'analisi (fase "create a method"), per la cui trattazione si rimanda al paragrafo dedicato all' "Analizzatore FP-528".

La procedura che è stata seguita per ogni analisi è riassumibile nei passi descritti di seguito:

- Collocamento dei campioni nel caricatore
- Esecuzione di 10 analisi a vuoto (blank) e aggiornamento del dato (blank calibration)
- Esecuzione di 3 analisi su standard glicolico (0.1% metodo siero, 0.5% metodo latte) e verifica della relativa curva di calibrazione
- Esecuzione del "drift" di adattamento in caso di mancato accordo tra il risultato fornito dalla verifica e la curva di calibrazione

Inserimento dei dati relativi ai campioni (codice, massa e metodo) nella griglia di gestione

- Esecuzione delle analisi
- Lettura e riorganizzazione dei valori forniti dallo strumento
- Presentazione dei risultati significativi

Ad ogni inizio analisi ed ad ogni cambio di sostanza analizzata (metodo di riferimento), è stata ripetuta la determinazione del contenuto di azoto a vuoto (blank) e la verifica della curva di calibrazione con l'intento di assicurare la bontà dei risultati strumentali.

Passando, ad esempio, dall'analisi di latte ad analisi di siero si introducono nell'analizzatore 3 campioni di soluzione di riferimento standard per il siero e si verifica che il risultato fornito dallo strumento sia prossimo a 0,100 %N. In caso negativo si applica una correzione (drift) al valore tale da normalizzare i dati secondo la curva di calibrazione. È quindi possibile procedere all'analisi.

*Preparazione dei campioni:* l'FP-528 permette di analizzare sia campioni solidi che liquidi seguendo procedure di preparazione diverse; i campioni solidi, come la cagliata, sono

incapsulati in fogli di stagno e pesati, mentre i campioni liquidi come il latte e il siero sono posti in capsule, sempre di stagno, mediante una “Gilson P 1000”. Lo stagno presenta il vantaggio, rispetto ad altri metalli tradizionalmente utilizzati, quali argento o alluminio, di sviluppare una reazione esotermica in presenza di ossigeno ad alta temperatura, sprigionando calore aggiunto che contribuisce ad incrementare la temperatura del reattore di ossidazione.

Le pesate, che per i solidi vanno da un valore minimo di 0,150 g fino ad un valore massimo di 0,250 g e per i liquidi da 0,100 g a 0,300 g, devono essere inserite nel programma di gestione collegato allo strumento (Sample login).

Il porta campioni multiplo, permette di caricare 35 campioni, sia solidi che liquidi, e di lasciare che questi siano introdotti progressivamente nella camera di combustione mediante un meccanismo automatizzato.

*Costruzione dei metodi e delle relative curve di calibrazione:* considerando che il nostro panorama di indagine si limita a campioni di latte e siero, il cui contenuto di azoto si avvicina rispettivamente intorno a 0,5 e 0,1 % di N, sono stati formulati due metodi, codificati “Latte” e “Siero”, e sono state isolate due curve di calibrazione utilizzando la glicina come standard di riferimento internazionale.

Si sono preparate due soluzioni di glicina allo 0,1 e 0,5 % di azoto partendo dal contenuto iniziale di 18,67 g N/100. Per ogni soluzione si sono preparati 10 campioni di massa differente (da 0,080g a 0,450g) e quindi sono stati analizzati. Successivamente per ogni metodo è stata eseguita una calibrazione a valore unico (S.P.C.) secondo le procedure descritte in seguito. In particolare si sono adottati 10 blanks per l’analisi a vuoto e si è ottenuto un minimo di stabilizzazione di 0,072 +/-0.001 N%. La prima calibrazione con lo standard di riferimento è espressa geometricamente da una retta passante per il centro esplicitata per il metodo “latte” dalla equazione  $y=0,9968x$  e per il metodo “Siero” dalla equazione  $y=0,9983x$ . Le analisi sono state condotte in triplo per ogni campione di latte siero e cagliata.

*Espressione dei risultati:* i risultati finali sono presentati in una griglia di gestione, excel condivisibile, all’interno della quale sono riportati, da sinistra a destra: il codice di identificazione del campione; la massa espressa in grammi; il metodo di riferimento; la data e l’ora dell’analisi; il contenuto di azoto espresso in mg; il contenuto di azoto espresso in % di massa; il contenuto proteico espresso in % di massa ed il fattore di correzione, che per latte e derivati è pari a 6,38. Questi valori sono automaticamente registrati su hard disk e attraverso un tool analitico è possibile visualizzare la media e la deviazione standard di arbitrari valori selezionati all’interno della griglia.

*Ripetibilità*: la differenza assoluta tra i risultati ottenuti per due differenti determinazioni, effettuate simultaneamente o in successione, nelle stesse condizioni, su campioni identici, non deve superare 0,015 g di azoto per 100 g di latte e 0,035 g di azoto per 100g di siero (IDF, 2000). Riferimenti bibliografici, (Manuale analizzatore), (Mc Auley, 1998), (AOAC, 1984).

### 3. Analizzatore FP-528

Per effettuare la determinazione del contenuto proteico secondo la metodologia Dumas, è stata utilizzata una strumentazione fornita dalla Leco, azienda affermata nel campo delle analisi con sistemi a combustione.

Lo strumento FP-528 è un analizzatore a combustione che determina il contenuto di azoto per un'ampia gamma di prodotti.

L'apparecchio è composto da un caricatore girevole, a 35 posizioni, da una camera di combustione, da un serbatoio di raccolta volumetrica, da un set di filtri selettivi, variamente disposti nel circuito automatizzato di analisi, da un condensatore termoelettrico e da un detector di conducibilità termica che permette di risalire al contenuto di azoto del campione analizzato. È collegato, attraverso una porta seriale, ad un computer su cui è installato un software, capace delle comuni elaborazioni statistiche e relative rappresentazioni grafiche, che permette la registrazione e la gestione dei risultati forniti strumentalmente (fig. 3, fig. 4, fig. 5)

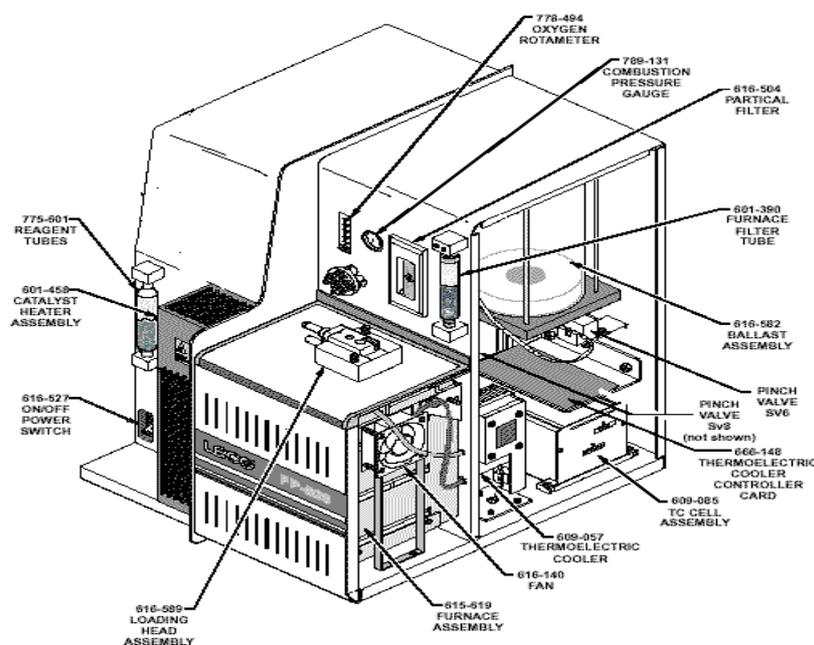
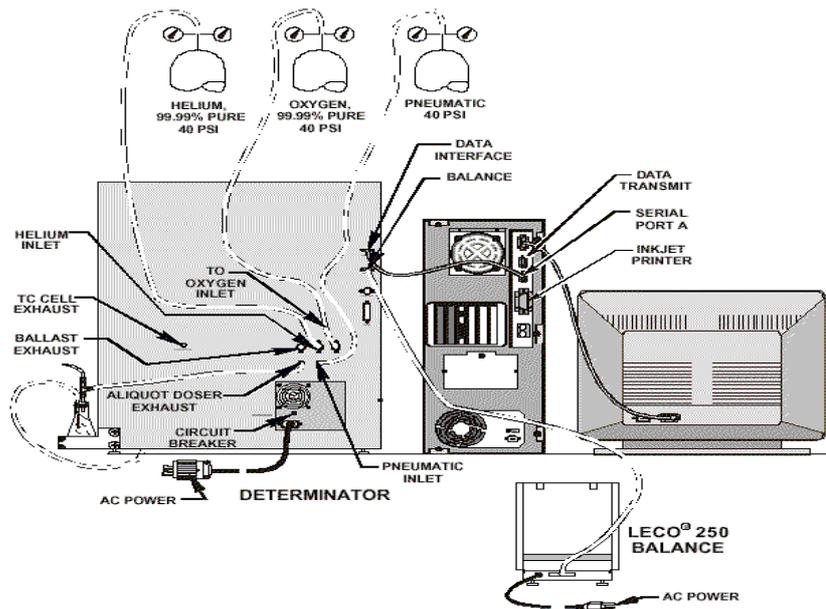
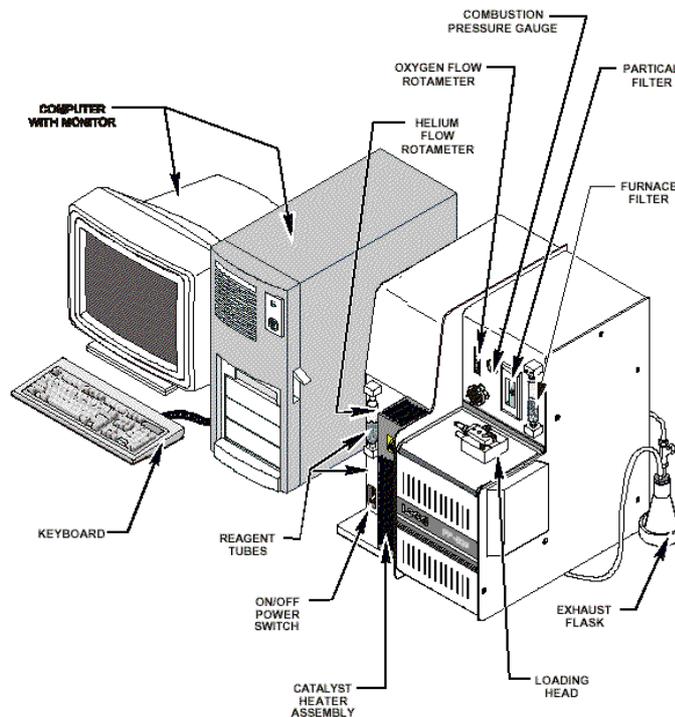


Fig. 3 Analizzatore FP-528

**Fig. 4 Analizzatore FP-528, bombole e computer di collegamento**



**Fig.5 Analizzatore FP-528 e computer di collegamento**



*Ciclo analitico:* il ciclo analitico si può ritenere composto da tre fasi: purificazione, combustione ed analisi vera e propria. Il principio di funzionamento è stato approfondito nel par. “Metodo Dumas, Principio”

*Detector di azoto:* lo strumento è fornito di una camera di rilevamento della conducibilità termica dei gas che qui vi circolano forzatamente. L'apparato consiste in due coppie di filamenti collegati in maniera da formare un ponte di Wheatstone. Una coppia di filamenti, detta di “riferimento”, è mantenuta in una corrente costante di He mentre l'altra, detta di “misura”, è mantenuta in una corrente di gas (He) che, momentaneamente, può scambiare (He e N). La corrente elettrica che circola all'interno del ponte provoca un riscaldamento dei

filamenti (effetto Joule) e la camera di rilevamento viene dapprincipio riscaldata ad una temperatura molto superiore a quella della cella di combustione e poi mantenuta costantemente alta dall'azione di "raffreddamento" operata dal gas in circolo (asportazione di una nota quantità di calore). Il ponte di Wheatstone è bilanciato quando le due coppie di filamenti sono essenzialmente immerse nel medesimo tipo di corrente di gas (He). L'equilibrio raggiunto viene alterato quando cambia la composizione del gas che avvolge la coppia di misura. Essendo la conducibilità termica della miscela di gas (He e N) inferiore a quella dell'He puro (e dunque anche la capacità di asportare calore), la coppia di misura innalza la propria temperatura momentaneamente e determina una lettura positiva del voltaggio. Diagrammando il voltaggio nel tempo, si ottiene un grafico a campana che presenta un picco al momento del maggior passaggio di quantitativo di N<sub>2</sub> nella miscela gassosa e l'integrale di tale curva (area sottoscritta) è correlabile al contenuto di N<sub>2</sub> del campione analizzato se paragonato alla risposta ottenuta analizzando standard internazionali. Un fattore correttivo, introdotto automaticamente dal software, si occupa di correggere gli scompensi strumentali indotti dai cambiamenti di temperatura della camera di rilevamento.

*Procedura di analisi:* il primo passo è quello di verificare che i parametri ambientali rientrino nei limiti espressi dalla tabella qui di seguito riportata:

Parametri	Valore Nominale	Intervallo Consentito	Unità di misura
Uscita TC cell	4.0	3.55 - 4.45	V
Corrente Tc cell	90	88 - 92	ma
Pressione del sistema	Altimetrico dipendente	-	mmHg
Temperatura della fornace	900	825 - 925	°C
Temperatura del catalizzatore	750	725 - 750	°C
Temperatura del flusso	40	38 - 42	°C
Temperatura del condensatore	5	2 - 10	°C

**Tab. 7 Limiti consentiti dei parametri ambientali**

Quindi si procede alla creazione di una metodo di analisi (Create a Method) a cui lo strumento farà riferimento nella procedura di indagine. A tal fine, dopo aver nominato la procedura con un codice (Method Name), si devono specificare i seguenti parametri quantitativi e temporali: il tempo di stazionamento (da 1 a 60 s) dei gas O<sub>2</sub> ed He, la corrente di aria compressa perdura nel corso di tutta l'analisi, l'entità del flusso (moderata o alta) dei tre gas, il tempo di campionamento (da 1 a 254 s) della conducibilità termica della miscela di gas da cui si estrapola il risultato dell'analisi (%N) ed il valore minimo atteso di contenuto in N% al di sotto del quale l'analisi sarà interrotta automaticamente. Nel caso specifico si sono creati tre metodi di riferimento nominati LATTE, SIERO e GENERALE, utilizzati in base al tipo di campione da analizzare. Le relative curve di calibrazione da noi eseguite sono state costruite a partire da standard di riferimento internazionali (EDTA e Glicina). Si sono

preparate due soluzioni di glicina allo 0,1 e 0,5 % di azoto partendo dal contenuto iniziale di 18,67 g N/100. Le percentuali si avvicinano alla concentrazione di azoto presente rispettivamente nel siero e nel latte. Per ogni soluzione si sono preparati 10 campioni di massa differente (da 0,080g a 0,450g) e quindi sono stati sottoposti ad analisi. Dai mg di N ricavati strumentalmente si sono potute costruire le due curve di riferimento per il siero e per il latte. Dopo la creazione del metodo di analisi si passa alla sua calibrazione che ha lo scopo di ottimizzare l'accuratezza strumentale esaminando sostanze standard a contenuto di azoto noto.

L' FP-528 permette di effettuare due tipi di calibrazione: a valore unico S.P.C. (Single Point Calibration) e a valore plurimo M.P.C. (Multi Point Calibration). La prima, S.P.C. è eseguita per i metodi che analizzano campioni il cui contenuto in azoto dovrebbe rientrare in un intervallo limitato (narrow range), mentre la seconda delle due, M.P.C., si effettua per i metodi che analizzano campioni i cui valori in azoto dovrebbero spaziare in un ampio intervallo (wide range).

Prima della fase di calibrazione è obbligatorio procedere con un'analisi a vuoto, detta blank analysis, che serve a valutare l'apporto dell'azoto e dell'elio contenuto nei gas di esercizio ( $O_2$ ) che inquinano l'analisi. Questa operazione si effettua ripetendo più volte l'analisi (6-12) senza l'introduzione di alcun campione. La risposta strumentale inizia generalmente da un valore alto che lentamente, al progredire del numero delle analisi a vuoto, scende fino a stabilizzarsi ad un minimo ( $< 0,07$  N% se si usa  $O_2$  purissimo e  $< 3$  N% se si utilizza ossigeno comune). Il raggiungimento della stabilizzazione può essere valutato anche statisticamente evidenziando con il cursore le ultime 2-3 analisi a vuoto realizzate. Sullo schermo appare così una finestra attiva che mostra le statistiche dei valori selezionati (media, scarto quadratico medio, deviazione standard, ecc.) e riferendosi alla deviazione standard relativa (RSD) quando questa è inferiore a 0,01 si può considerare che la stabilizzazione sia avvenuta. Selezionando le analisi a vuoto che presentano un RSD  $< 0,01$ , si esegue, successivamente, la calibratura a vuoto, detta blank calibration, tramite la quale si stima il valore effettivo di N% responsabile dell'inquinamento dell'analisi dei campioni che sarà automaticamente decurtato dal risultato finale di ogni successiva analisi. A questo punto viene costruita la curva di calibrazione diagrammando i risultati di un ciclo di analisi con standard di riferimento internazionali (S.R.I.) su di un grafico sulle cui ordinate è descritta la massa di standard analizzato e sulle cui ascisse è espresso il contenuto in azoto<sup>1</sup>. Come già indicato gli S.R.I. sono costituiti da sostanze a contenuto di azoto noto la cui scelta ed il cui quantitativo da

---

<sup>1</sup> In realtà al posto del contenuto di azoto viene riportata l' Area del grafico della conducibilità sul tempo di campionamento (valore che lo strumento legge durante l'analisi) decurtata dell'Area a vuoto e aggiustata di alcuni fattori moltiplicativi .

utilizzare per la calibrazione dipendono dallo stato fisico dei campioni da analizzare e dal loro presunto contenuto in azoto.

Per la calibrazione del tipo S.P.C., si utilizza un unico standard la cui concentrazione azotata si deve avvicinare il più possibile a quella che è prevista per i campioni. La corrispondente curva di calibrazione sarà espressa da una retta passante per l'origine.

Differentemente, per la calibrazione ad ampio range (M.P.C.), si utilizzano più di uno standard da cui è possibile individuare un intervallo, i cui limiti superiore ed inferiore sono rispettivamente fissati dallo standard a concentrazione di N<sub>2</sub> maggiore e da quello a concentrazione minore. I campioni destinati all'analisi dovranno ricadere all'interno di tale intervallo di concentrazione. La corrispondente curva di calibrazione sarà espressa da una retta o da un'iperbole sempre passante per l'origine. Le curve sono il risultato dell'interpolazione grafica dei valori ed analiticamente rappresentano la funzione (lineare, quadratica o cubica) che minimizza lo scarto quadratico medio. Il procedimento di calibrazione garantisce l'accuratezza e la precisione strumentale per il range di concentrazione considerato. La curva che ne deriva e con essa la funzione che la esplicita, eseguita singolarmente per ogni metodo, assume validità fino a quando non si interviene esternamente sulle condizioni al contorno (manutenzioni straordinarie e sostituzione bombole).

Prima di operare l'analisi sui campioni è consigliato eseguire due operazioni che assicurano la bontà dei risultati strumentali. A scadenza giornaliera o ad ogni cambio nel metodo di analisi, è opportuno verificare il contenuto di azoto a vuoto (blank) e la curva di calibrazione. Nel primo caso si agisce operando un'analisi a vuoto mentre, nel secondo, quando necessari viene applicato un fattore di correzione (drift factor) al risultato fornito analizzando tre campioni di uguale massa di standard di riferimento. Quest'ultimo caso si traduce geometricamente in un adattamento (traslatura) dei valori ottenuti fino a farli coincidere con la curva di calibrazione. A questo punto lo strumento è pronto per affrontare le analisi e fornire per ogni campione analizzato un valore numerico preciso e accurato che inserito sulle ascisse del grafico della curva di calibrazione, restituisce univocamente un valore di massa di analizzato.

Per fornire il contenuto in N % del campione il software di gestione utilizza la seguente formula:

$$\%N = \frac{g_{\text{ricavato}} \times 100}{g_{\text{campione}}}$$

Riferimenti bibliografici (Manuale analizzatore).

### III.2.6 CONTROLLI MICROBIOLOGICI

Questo tipo di indagini sono state effettuate in collaborazione con il Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica “G. Sanarelli”, Università degli Studi di Roma “La Sapienza”, su latte fresco pastorizzato, fresco pastorizzato di alta qualità, microfiltrato ed alto pastorizzato.

Gli accertamenti eseguiti hanno riguardato:

- Conta batterica standard (CBS): è stata eseguita sul latte per diluizioni successive utilizzando il terreno Agar Plate Count ed incubando le piastre a +30°C per tre giorni;
- Psicrofili: è stata eseguita sul latte per diluizioni successive utilizzando il terreno Agar Plate Count ed incubando le piastre a +21°C per 48 ore.

### III.2.7 INDAGINI SU LATTE UHT

Questo studio ha avuto inizio dopo la richiesta di aiuto, da parte di una Cooperativa del centro Italia, che riscontrava un odore anomalo molto intenso nelle confezioni di latte UHT prodotto. Prima di tutto si è operato facendo un confronto tra latte UHT in questione ed un altro UHT presente in commercio, in merito ai possibili off-flavours presenti.

In seguito sono stati analizzati campioni di latte crudo provenienti da diverse aziende riunite in gruppi più o meno numerosi tali da fornire 9 principali unità campionarie contrassegnate con numerazione crescente dall'1 all'9 ed il corrispondente latte UHT parzialmente scremato prodotto dalla stessa cooperativa (solo per i prelievi del 14/03, 17/05 e 8/06).

Il campionamento è stato effettuato per quattro volte i giorni 28/02, 14/03, 17/05 e del 08/06.

Quest'ultimo latte UHT differenzia dal primo analizzato, in quanto il rapporto tempo/temperatura a livello del trattamento termico è stato di 146 °C per 3" invece che 150 °C per 7" applicati usualmente nella Cooperativa ed inoltre sono state variate le condizioni di lavoro della pompa del vuoto.

Per isolare le sostanze volatili da complesse matrici come il latte e prodotti lattieri, sono stati applicati numerosi procedimenti. Si rende necessario eseguire differenti step di estrazione, concentrazione ed iniezione in GC poiché la maggior parte dei flavour è presente in piccole quantità o addirittura in tracce (< di 10 ng/ml) sia nel campione che nella fase di vapore. Per l'elevata sensibilità di questi composti al calore e/o all'ossigeno, durante la

preparazione del campione e l'isolamento degli aromi devono essere prese alcune precauzioni per assicurarsi che non subiscano modifiche e che siano ridotte al minimo le perdite.

Inoltre per prevenire la formazione di nuovi composti (artefatti) ed evitare possibili contaminazioni legate all'ambiente e al personale del laboratorio (come il fumo, cosmetici e solventi nelle vicinanze) è importante lavorare in condizioni idonee.

Gli aromi sono generalmente distribuiti in modo eterogeneo nei prodotti lattieri; per questa ragione la loro analisi richiede una precedente e attenta omogeneizzazione del campione.

Generalmente, i composti volatili sono chiaramente lipofili e sono pertanto disciolti nella fase grassa o legati alle proteine. Il primo step nella procedura per la loro estrazione dalla matrice consiste in una soluzione acquosa diluita.

Prima dell'analisi in GC questi composti devono essere separati dall'acqua usando un solvente organico o una miscela di solventi. Tuttavia, questo tedioso e lungo procedimento è oggi evitabile grazie ad alcune tecniche più moderne che consentono il diretto assorbimento dei flavour in una fase solida.

È stato infatti messo a punto un metodo molto efficace per la loro estrazione dal latte, prima dell'iniezione nella colonna gas-cromatografica, basato sulla microestrazione su fase solida (SPME) senza l'uso di solventi.

La SPME prevede l'adsorbimento delle componenti volatili su di una fibra costituita da carboxen-polidimetilsilossano (PDMS) e, in taluni casi, sostituita con una fibra rivestita di carbone poroso poiché più sensibile per quelle analisi in cui i piccoli analiti sono presenti in tracce.

La preparazione dei campioni avviene prendendo 5 ml del campione di latte aggiunto di standard interno e posto in un vial di vetro ambrato, chiuso rapidamente con un setto molded.

La fibra viene posizionata nello spazio di testa sopra il campione, sempre nello stesso esatto modo per tutti i campioni preparati, ed esposta ad off-flavours; dopo ciò, il vial è messo per 20 minuti a 60 °C e mantenuto contemporaneamente sotto agitazione magnetica. Al termine di questa fase di estrazione la fibra viene retratta e rimossa dal vial.

Il profilo dei off-flavours ottenuto analizzando un campione di latte viene poi confrontato con degli standards autentici analizzati nelle medesime condizioni.

(La parte sopra descritta è stata sviluppata presso il Centro Ricerche Analisi Biochimico Nutrizionali di Ellera di Corciano, Perugia)

I latti UHT, caratterizzati dalle due coppie tempo/temperature diverse, sono stati in seguito sottoposti alle prove al calore e alcool già descritte in precedenza, allo scopo di verificare se questo trattamento termico più blando, comportasse grandi differenze relativamente alla conservazione del prodotto. Queste ultime sono state eseguite due volte al mese a partire dal mese di giugno.

Il pH e SH° sono stati misurati dopo la scadenza del latte oggetto di studio.

### III.2.8 RISULTATI E DISCUSSIONE SEZIONE ANALITICA

#### 1. Prove di stabilità, pH e acidità di titolazione

*Premessa:* nelle tabelle 8 e 9, sono riportati i risultati delle prove di stabilità rispettivamente del primo e del secondo ciclo. Le tabelle 10 e 11 mostrano le medie dei risultati ottenuti dalle analisi condotte per la determinazione di pH, acidità ed azoto rispettivamente per il primo ed il secondo ciclo di sperimentazione.

Data la correlazione dei valori di pH, acidità e stabilità del latte si è ritenuto opportuno discutere insieme i risultati di queste tre indagini.

I due test prescelti per effettuare le prove di stabilità (test di stabilità all'alcool e di stabilità al calore), sono tipicamente utilizzati per valutare stabilità, freschezza e buono stato di conservazione del latte non ancora sanificato all'arrivo nelle centrali.

La scelta di utilizzare questi test per il latte già sanificato, stabilizzato e quindi confezionato è dovuta al fatto che alcune centrali del latte lo utilizzano routinariamente per effettuare prove di shelf-life dei loro prodotti confezionati, poiché trattasi di prove estremamente rapide, economiche, facilmente eseguibili da chiunque ed inoltre i risultati che si ottengono sono egualmente correlati con lo stato di conservazione e di stabilità del latte.

In particolare il comportamento del latte alle prove di stabilità all'alcool è un indice molto importante, poiché consente di mettere in evidenza particolari tipologie di latte, come, per esempio, latti "vecchi", "stanchi", già trattati termicamente oppure "disgenici". Il significato di questa prova è correlato al buono e regolare stato di aggregazione dell'"edificio caseinico" e, quindi, alla sua capacità di rimanere in sospensione colloidale.

Le micelle caseiniche sono infatti stabilizzate dalla presenza di molecole di acqua che ha una costante dielettrica relativa ( $\epsilon_0$ ) pari a circa 80; l'aggiunta di alcool ( $\epsilon_0 \cong 20$ ), diminuisce la costante dielettrica relativa del mezzo disperdente e questo ne riduce la capacità disperdente. Inoltre vengono a ridursi sensibilmente le molecole di acqua di solvatazione delle caseine.

L'insieme dei due suddetti fenomeni favorisce l'insorgenza di instabilità dell'"edificio caseinico" e la conseguente netta e ben visibile disaggregazione del "Sistema Latte".

Un latte con buone caratteristiche qualitative rimane stabile all'aggiunta di alcool a tutte e tre le concentrazioni utilizzate, mentre, un latte che presenta una (o più) delle suddette caratteristiche negative assume un comportamento di instabilità tanto maggiore quanto più alto sarà il livello di "stress" raggiunto e tanto maggiore è la gradazione dell'alcool utilizzata per il test.

Facendo riferimento ai dati forniti dalla centrale del latte di Roma, in genere il latte che ha subito un solo trattamento termico risulta negativo a questi saggi anche fino a 30 giorni dalla data di confezionamento.

Anche l'interpretazione dei risultati della prova al calore, che dipende principalmente dall'acidità libera (pH), permette di elaborare importanti valutazioni. La complessità chimico-fisica del latte fa sì che il riscaldamento può influire su diversi punti che condizionano la stabilità del fragile sistema latte. In particolare l'instabilità che può derivare da un trattamento termico può riguardare la degradazione della caseina (defosforilazione, rottura del legame peptidico, ecc.) e le modificazioni dello stato micellare, portando ad una flocculazione più o meno visibile della sospensione delle caseine per la formazione di piccoli coaguli nel latte (Alais, 2000).

La presenza di microrganismi che provocano fermentazione lattica, aumentando l'acidità del latte, accelera la comparsa di possibili modificazioni fisico-chimiche (Sciancalepore, 1998); da ciò si può dedurre che se un latte risponde positivamente alla prova al calore c'è stata un'alterazione dell'acidità che potrebbe dipendere dallo sviluppo della carica microbica.

E' possibile, comunque, che alcuni latti, pur mostrando instabilità alle prove al calore e/o all'alcool, mostrino valori di acidità pressoché normali e non variati nel tempo; questo è attribuibile all'elevato potere tampone del latte che fa sì che non si abbia una variazione sensibile di pH anche dopo una discreta produzione di acido lattico.

#### *Risultati:*

Per il primo ciclo le analisi sono state effettuate a giorni alterni per un periodo totale di diciotto giorni dalla data di acquisto. I risultati sono illustrati nelle tabelle 8 e 10 dalle quali si rileva che:

- a) I latti alta qualità, microfiltrato ed alto pastorizzato, evidenziano (Tab.8) una stabilità, dalla data d'acquisto fino al 18° giorno, sia all'alcool sia ai trattamenti termici, mentre

il latte fresco pastorizzato evidenzia al dodicesimo giorno una instabilità al trattamento termico per 15' ed al 14° giorno mostra una instabilità al calore (10') ed anche all'alcool a 75°.

- b) I dati del pH e dell'acidità di titolazione riportati in Tab.10, danno evidenza di quanto sopra discusso per il latte alta qualità, microfiltrato ed alto pastorizzato, infatti non si nota una variazione significativa nel corso dei diciotto giorni di conservazione; gli stessi dati di pH e dell'acidità di titolazione non sembrano motivare la ridotta stabilità del latte pastorizzato fresco, questo può essere dovuto all'elevato potere tampone che permette al latte di non manifestare evidenti cambiamenti di acidità anche in presenza di uno sviluppo microbico già nettamente avviato, oppure, più probabilmente, ci si è trovati di fronte ad un latte altamente "stressato" che aveva subito più di un trattamento termico prima del confezionamento.
- c) Per il latte pastorizzato fresco, in Tab.10, si nota, contrariamente a quanto ci si poteva aspettare, una diminuzione significativa dell'acidità di titolazione. Tenendo conto che 2/5 di tale acidità sono imputabili alla componente caseinica (Alais, 2000), si può facilmente dedurre che tale riduzione dipende da una modificazione sostanziale dell'intero "edificio caseinico". Tale ipotesi è suffragata dalla positività avuta alla prova all'alcool che mette in evidenza la "stanchezza" di tale latte, come già evidenziato al punto precedente.

Nel secondo ciclo l'impostazione del disegno sperimentale ha previsto un periodo d'indagine più lungo al fine di potere condurre le analisi fino a quando tutte le tipologie di latte abbiano raggiunto la completa positività alle due prove di stabilità (Tabb.9 e 11).

- d) I risultati delle prove all'alcool ed al calore relativi al latte fresco pastorizzato (Tab.9) confermano i dati del primo ciclo (Tab.8), inoltre (Tab.11) il pH rimane costante fino al quattordicesimo giorno, quando inizia a diminuire progressivamente fino a raggiungere un valore di 6 al ventottesimo giorno. Anche l'acidità di titolazione rimane costante fino al quattordicesimo giorno, dopo di che inizia a salire a valori di 14° SH al ventunesimo e 15° SH al ventottesimo giorno.
- e) Per il latte alta qualità la coagulazione è avvenuta al trentacinquesimo giorno sia alla prova all'alcol (70°) che a quella al calore (5') (Tab.9) quando il pH registrato è stato di 6,5, leggermente inferiore rispetto ai valori iniziali pur rimanendo nella normalità, mentre l'acidità ha mostrato un aumento fino a 12° SH (Tab.11).
- f) Il latte microfiltrato ed il latte alto pastorizzato sono caratterizzati da shelf-life lunga e parametri simili (Tabb.9 e 11); infatti entrambi danno una risposta positiva sia alla

prova all'alcool (70°) sia al riscaldamento (5') al quarantanovesimo giorno; i valori di pH e di acidità mantengono un andamento costante nel tempo rimanendo intorno a valori di 6,7-6,8 di pH e 7-8 di acidità di titolazione.

Prove all'alcool	Giorni di conservazione									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Latte fresco pastorizzato	-	-	-	-	-	-	-	75°	70°	-
Latte alta qualità	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Latte microfiltrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Latte alto pastorizzato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Prove al calore	Giorni di conservazione									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Latte fresco pastorizzato	-	-	-	-	-	-	15'	10'	5'	-
Latte alta qualità	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Latte microfiltrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Latte alto pastorizzato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 8 Risultati delle prove di conservazione (I°ciclo)

Prove all'alcool	Giorni di conservazione							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Latte fresco pastorizzato	-	-	75°	75°	70°	-	-	-
Latte alta qualità	-	-	-	-	-	70°	-	70°
Latte microfiltrato	-	-	-	-	-	-	-	70°
Latte alto pastorizzato	-	-	-	-	-	-	-	-

Prove al calore	Giorni di conservazione							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Latte fresco pastorizzato	-	-	15'	10'	5'	-	-	-
Latte alta qualità	-	-	-	-	-	5'	-	-
Latte microfiltrato	-	-	-	-	-	-	-	5'
Latte alto pastorizzato	-	-	-	-	-	-	-	5'

Tab. 9 Risultati delle prove di conservazione (II°ciclo)

<b>LATTE FRESCO PASTORIZZATO</b>						
gg di conservazione			N % nel latte		N % nel siero	
	°SH	pH	K	D	K	D
0	7,0	6,8	0,52	0,54	0,09	0,08
2	6,3	6,8	0,50	0,51	0,08	0,18
4	6,7	6,8	0,52	0,53	0,09	0,11
6	6,4	6,8	0,54	0,51	0,09	0,11
8	6,4	6,9	0,52	0,56	0,09	0,12
10	6,6	6,8	0,44	0,48	0,07	0,11
12	6,6	6,9	0,51	0,52	0,05	0,11
14	6,4	6,9	0,54	0,54	0,07	0,13
16	6,1	6,8	0,52	0,55	0,09	0,20
18						

<b>LATTE ALTA QUALITA'</b>						
gg di conservazione			N % nel latte		N % nel siero	
	°SH	pH	K	D	K	D
0	7,0	6,6	0,50	0,53	0,08	0,09
2	6,8	6,7	0,53	0,50	0,05	0,10
4	6,8	6,7	0,53	0,51	0,08	0,10
6	6,1	6,7	0,51	0,49	0,08	0,10
8	6,5	6,7	0,44	0,55	0,09	0,10
10	6,5	6,8	0,45	0,50	0,08	0,12
12	6,7	6,8	0,39	0,50	0,07	0,12
14	6,7	6,8	0,47	0,52	0,07	0,12
16	6,7	6,8	0,52	0,53	0,09	0,13
18	6,8	6,7	0,50	0,53	0,08	0,12

<b>LATTE MICROFILTRATO</b>						
gg di conservazione			N % nel latte.		N % nel siero	
	°SH	pH	K	D	K	D
0	7,3	6,6	0,55	0,55	0,08	0,08
2	7,0	6,7	0,55	0,58	0,06	0,12
4	7,2	6,7	0,54	0,53	0,08	0,10
6	6,8	6,7	0,53	0,54	0,07	0,07
8	7,0	6,7	0,47	0,53	0,07	0,11
10	6,8	6,7	0,46	0,55	0,07	0,12
12	7,1	6,7	0,45	0,52	0,06	0,12
14	6,8	6,7	0,43	0,54	0,08	0,13
16	6,7	6,8	0,55	0,59	0,09	0,12
18	7,2	6,7	0,51	0,55	0,05	0,09

<b>LATTE ALTO PASTORIZZATO</b>						
gg di conservazione			N % nel latte.		N % nel siero	
	°SH	pH	K	D	K	D
0	6,4	6,8	0,51	0,50	0,07	0,06
2	6,3	6,8	0,52	0,50	0,05	0,10
4	6,7	6,8	0,50	0,50	0,06	0,05
6	6,3	6,8	0,51	0,49	0,05	0,07
8	6,0	6,9	0,44	0,51	0,03	0,08
10	5,8	6,9	0,49	0,48	0,05	0,08
12	6,4	6,8	0,39	0,50	0,03	0,07
14	6,0	6,9	0,38	0,52	0,06	0,08
16	5,9	6,9	0,51	0,53	0,07	0,08
18	5,9	6,9	0,46	0,50	0,08	0,09

K: % di N determinato con il metodo Kjeldhal

D: % di N determinato con il metodo Dumas

**Tab. 10 Risultati delle analisi condotte durante il primo ciclo**

LATTE FRESCO PASTORIZZATO							
gg di conservazione	°SH	pH	N % nel latte		N % nel siero		
			K	D	K	D (1)	D (2)
0	7	6,9	0,54	0,52	0,08	0,1	0,05
7	7	7	0,52	0,56	0,08	0,13	0,09
14	9	6,7	0,52	0,53	0,09	0,13	0,08
21	14	6,2	0,49	0,56	0,08	0,14	0,09
28	15	6	-	-	-	-	-
35							
42							
49							

LATTE ALTA QUALITA'							
gg di conservazione	°SH	pH	%N nel latte		% N nel siero		
			K	D	K	D (1)	D (2)
0	8	6,9	0,53	0,55	0,08	0,08	0,05
7	7	6,7	0,52	0,55	0,08	0,12	0,1
14	9	6,7	0,52	0,53	0,08	0,12	0,07
21	8	6,7	0,51	0,56	0,10	0,14	0,09
28	9	6,8	0,52	0,52	0,09	0,11	0,10
35	12	6,5	-	-	-	-	-
42							
49							

LATTE MICROFILTRATO							
gg di conservazione	°SH	pH	%N nel latte		% N nel siero		
			K	D	K	D (1)	D (2)
0	8	6,9	0,57	0,56	0,09	0,08	0,06
7	8	6,8	0,58	0,58	0,08	0,11	0,08
14	9	6,6	0,54	0,56	0,09	0,12	0,07
21	8	6,8	0,57	0,62	0,05	0,13	0,07
28	7	6,9	0,57	0,56	0,11	0,15	0,10
35	6	7	0,57	0,55	0,11	0,16	0,09
42	8	6,8	0,56	0,57	0,12	0,17	0,11
49	8	6,7					

LATTE ALTO PASTORIZZATO							
gg di conservazione	°SH	pH	%N nel latte		% N nel siero		
			K	D	K	D (1)	D (2)
0	8	6,9	0,52	0,5	0,07	0,10	0,04
7	7	6,8	0,51	0,57	0,05	0,12	0,05
14	7	6,7	0,51	0,55	0,06	0,11	0,06
21	8	6,7	0,35	0,59	0,06	0,11	0,06
28	7	6,9	0,51	0,5	0,06	0,11	0,07
35	7	6,9	0,52	0,52	0,11	0,13	0,07
42	8	6,7	0,52	0,59	0,06	0,13	0,08
49	8	6,8					

K: % di N determinato con il metodo Kjeldhal

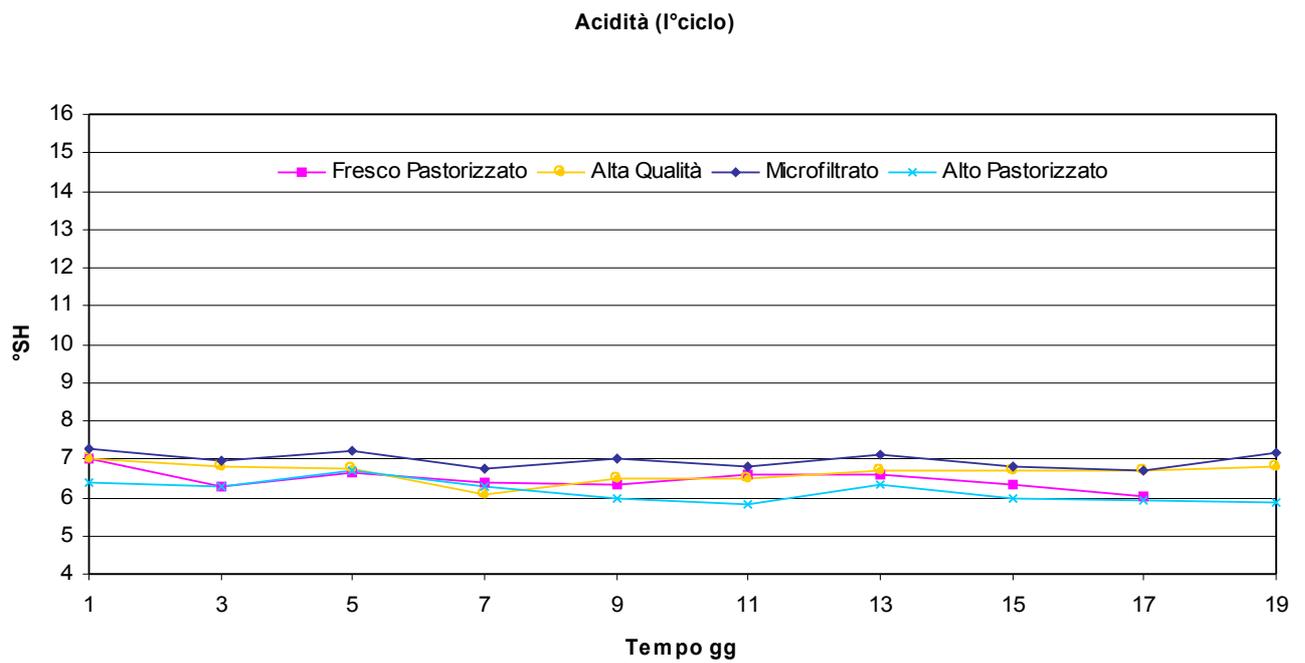
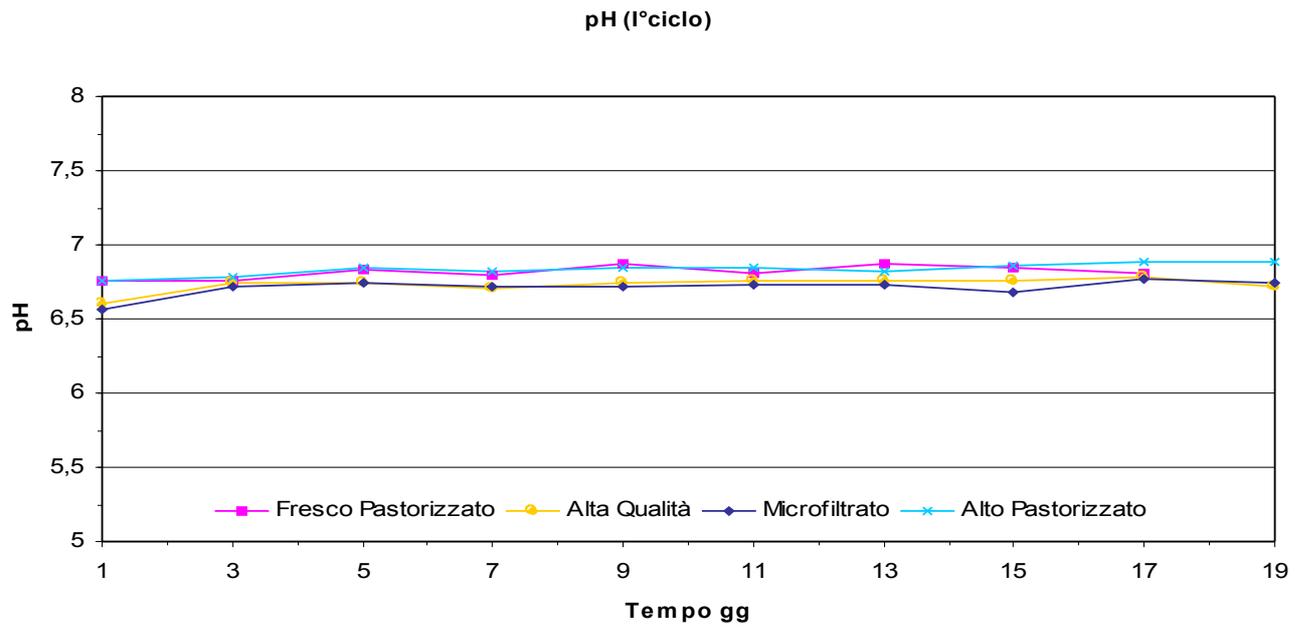
D: % di N determinato con il metodo Dumas

D (1): % di N determinata utilizzando il metodo Dumas e come standard di riferimento la glicina allo 0,5% di N.

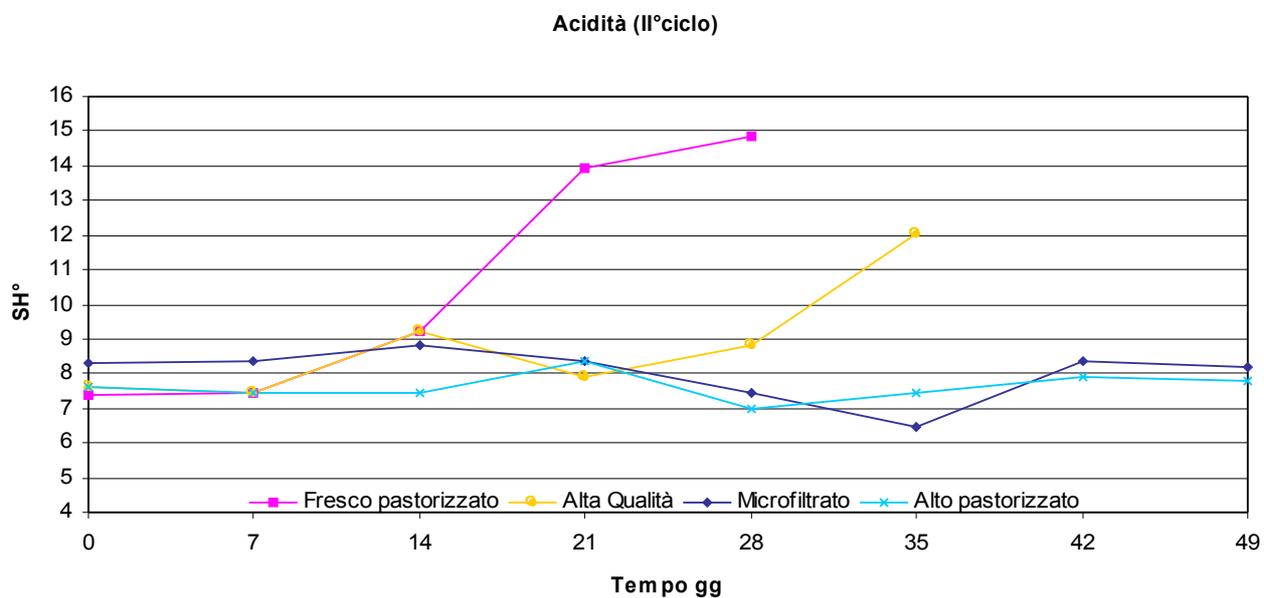
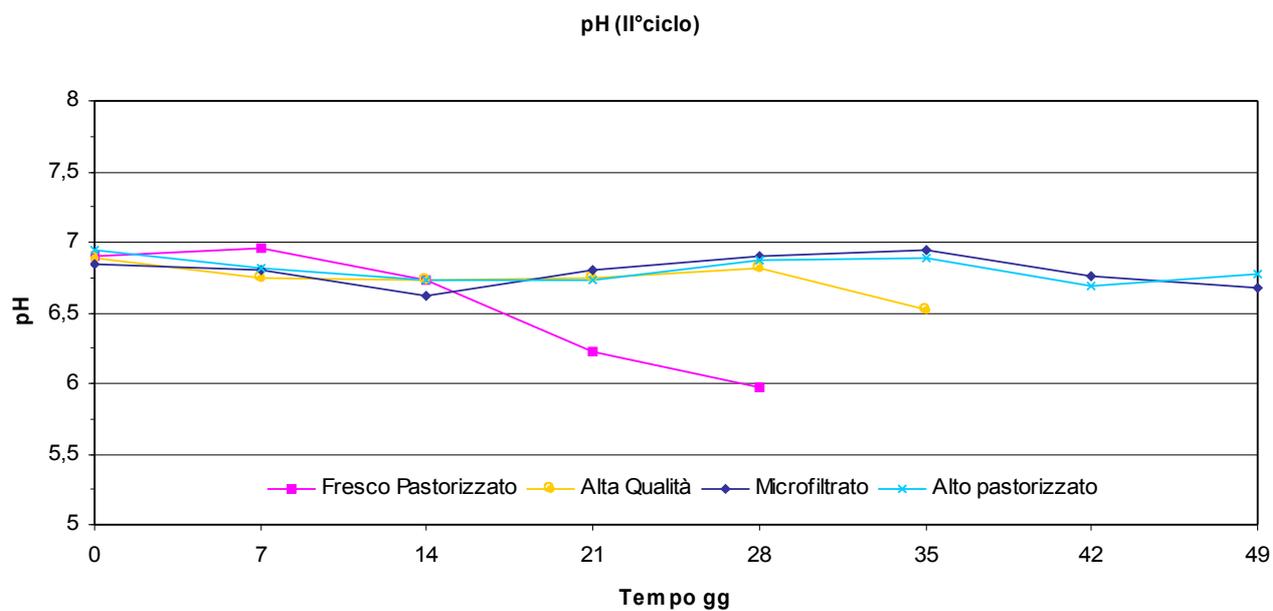
D (2): % di N determinata utilizzando il metodo Dumas e come standard di riferimento la glicina allo 0,1% di N.

**Tab. 11 Risultati delle analisi condotte durante il secondo ciclo**

I valori del pH e dell'acidità di titolazione ed i loro andamenti nel tempo sono illustrati nei grafici 1 e 2.



**Graf. 1 Andamento del pH e dell'acidità nel tempo (I°ciclo)**



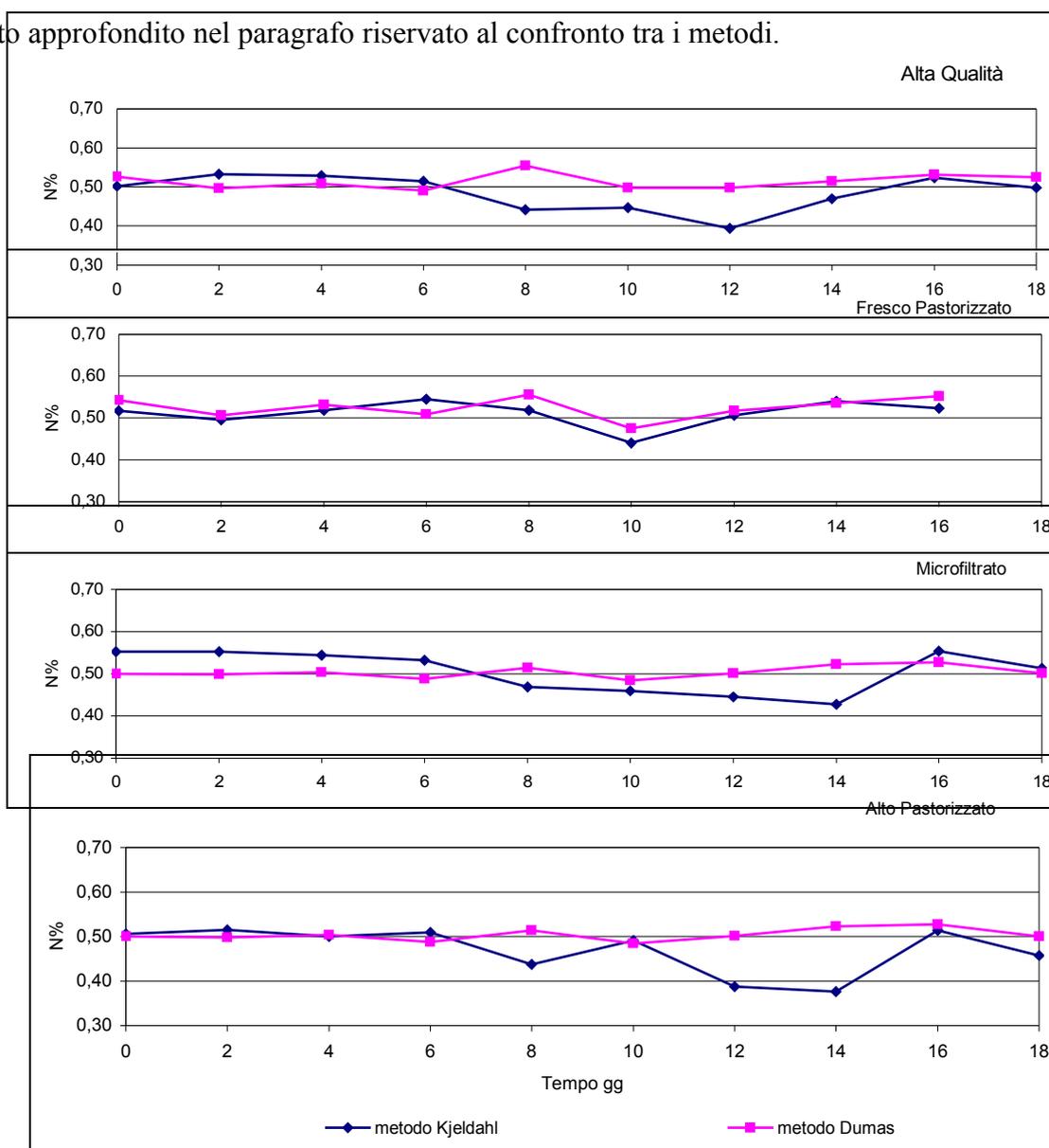
**Graf. 2 Andamento del pH e dell'acidità nel tempo (II°ciclo)**

I grafici che seguono, 3 e 4, mettono a confronto i risultati ottenuti dalle analisi per la determinazione del contenuto di azoto effettuate con i due metodi, Kjeldahl e Dumas, condotte

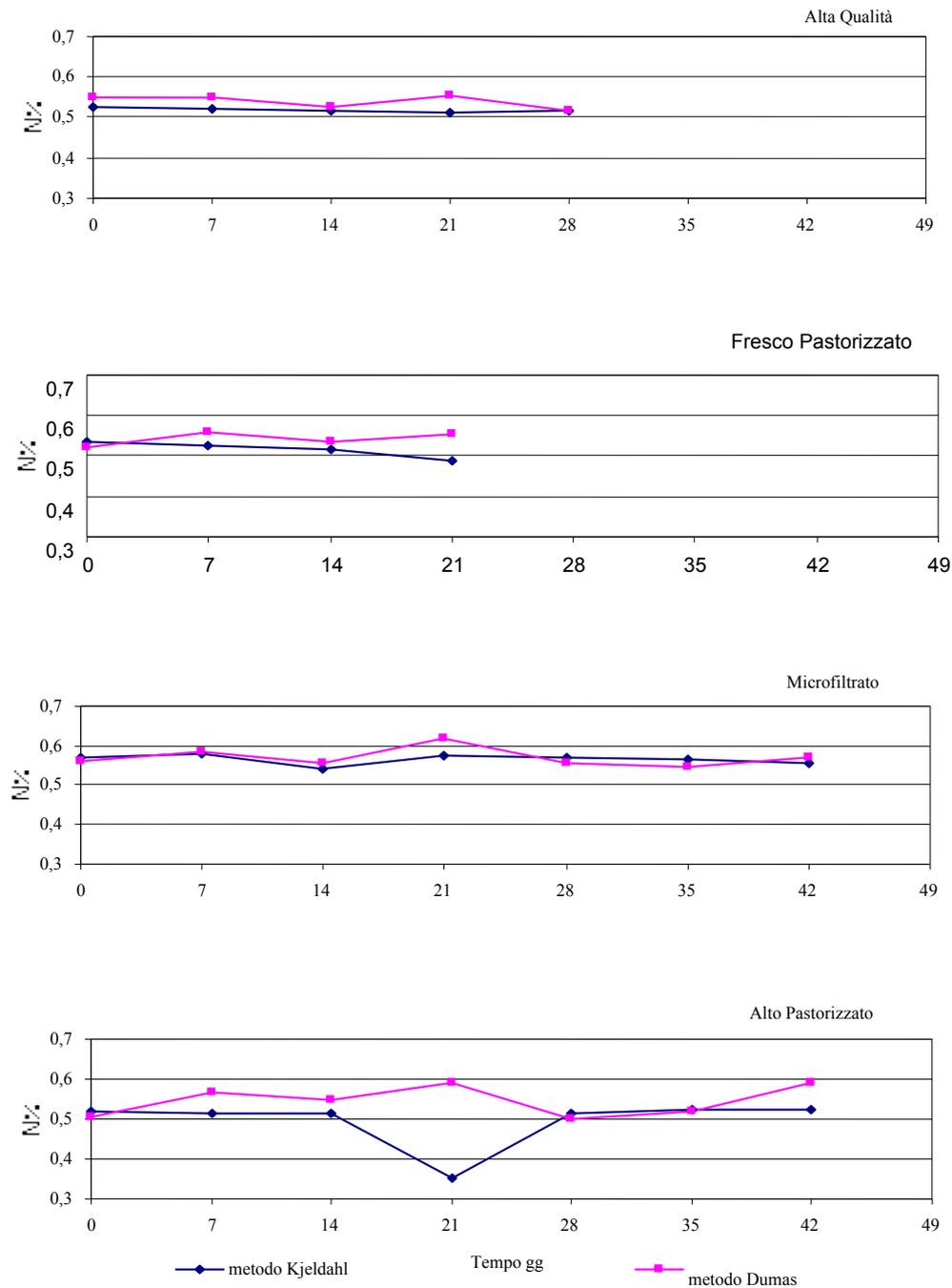
sulle quattro tipologie di latte. I valori si riferiscono alla tabella 10 relativa al primo ciclo ed alla tabella 11 relativa al secondo ciclo di analisi.

Tutti i grafici, riferiti al primo ciclo, mostrano che il contenuto di azoto del latte rimane costante nel tempo a parte qualche sporadico picco, legato, probabilmente, ad alcuni errori sistematici ed accidentali. I valori riscontrati nel secondo ciclo confermano questa situazione.

Le curve di confronto tra i due metodi tendono ad assumere lo stesso trend ed i valori, risultanti dalle analisi eseguite con la metodica Dumas, indicano, nella maggioranza dei casi, un contenuto di azoto superiore rispetto a quello ottenuto con il Kjeldahl; l'argomento è stato approfondito nel paragrafo riservato al confronto tra i metodi.



**Graf. 3** Variazioni del contenuto di azoto (%) nel tempo di conservazione ricavato con i metodi Kjeldahl e Dumas (I° ciclo di analisi)



**Graf. 4** Variazioni del contenuto di azoto (%) nel tempo di conservazione ricavato con i metodi Kjeldahl e Dumas (II° ciclo di analisi)

## 2 Determinazione della componente azotata nel siero

I risultati delle analisi effettuate sul siero per la determinazione della componente azotata con i due metodi analitici, Kjeldahl e Dumas, sono riportati nella tabella 10, per il primo ciclo, e 11 per il secondo ciclo. Si ricorda che per il primo ciclo la curva di calibrazione utilizzata per determinare l'azoto nel siero con l'analizzatore automatizzato (FP-528) è la stessa di quella utilizzata per la determinazione della componente azotata nel latte (METODO LATTE).

Dai dati (Tab.10) e dalle rappresentazioni grafiche che li raffigurano (Graf.5), è evidente come i risultati ottenuti con la metodica Dumas si discostino da quelli ottenuti con il metodo Kjeldahl, assumendo costantemente un valore maggiore. Questa tendenza conferma ciò che era già scaturito dalla lettura dei grafici riguardanti il latte (Graff. 2 e 3) ma in questo caso si presenta in maniera molto più marcata.

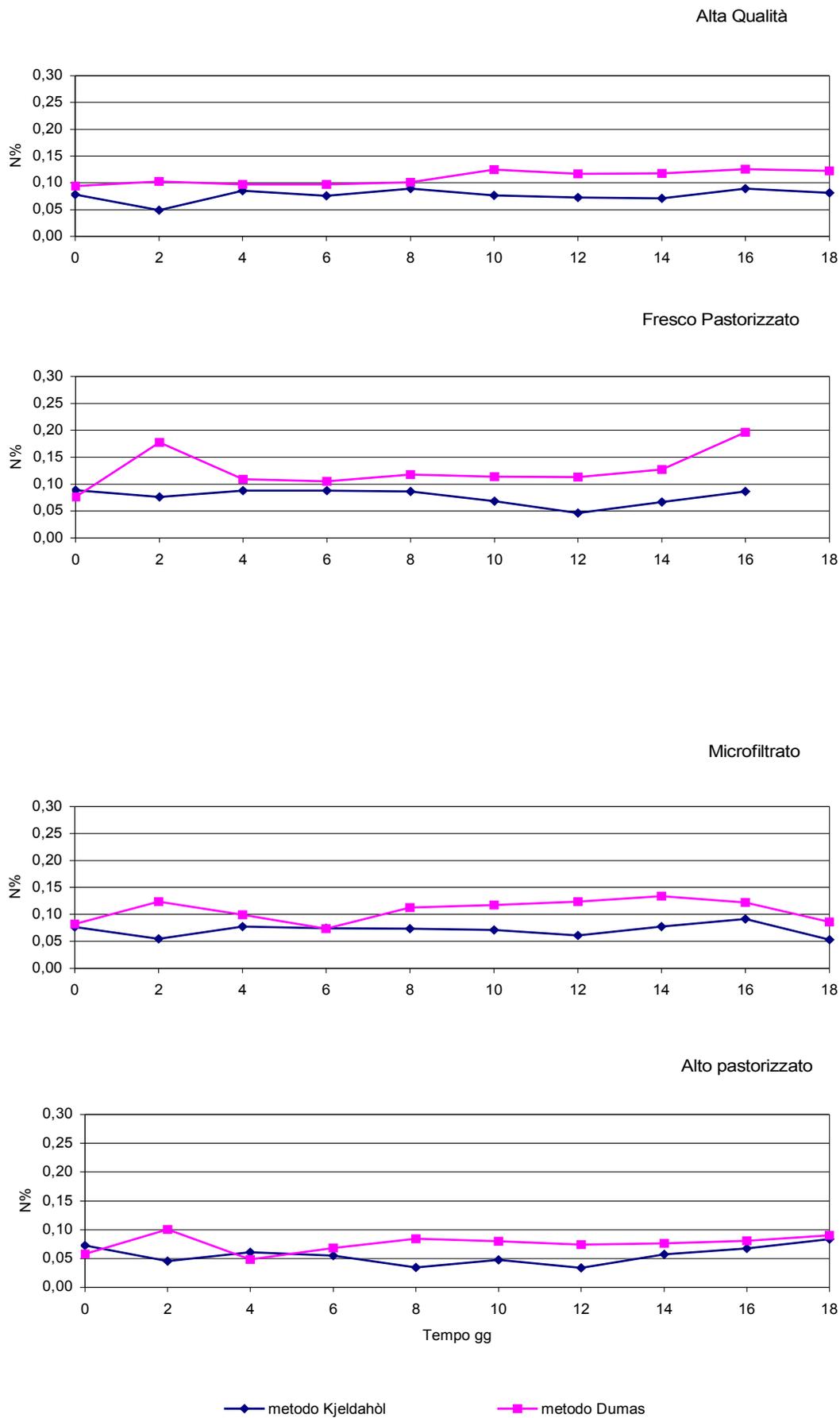
Questo probabilmente perché in questo secondo caso la differenza è dovuta anche ad una mancato corretto procedimento nell'eseguire le analisi con l'analizzatore automatizzato relativamente al siero.

Lo standard utilizzato per la elaborazione della curva di calibrazione (Glicina allo 0,5 % di azoto) presenta un contenuto di azoto che si avvicina a quello del latte ma che non tiene conto di quello contenuto nel siero.

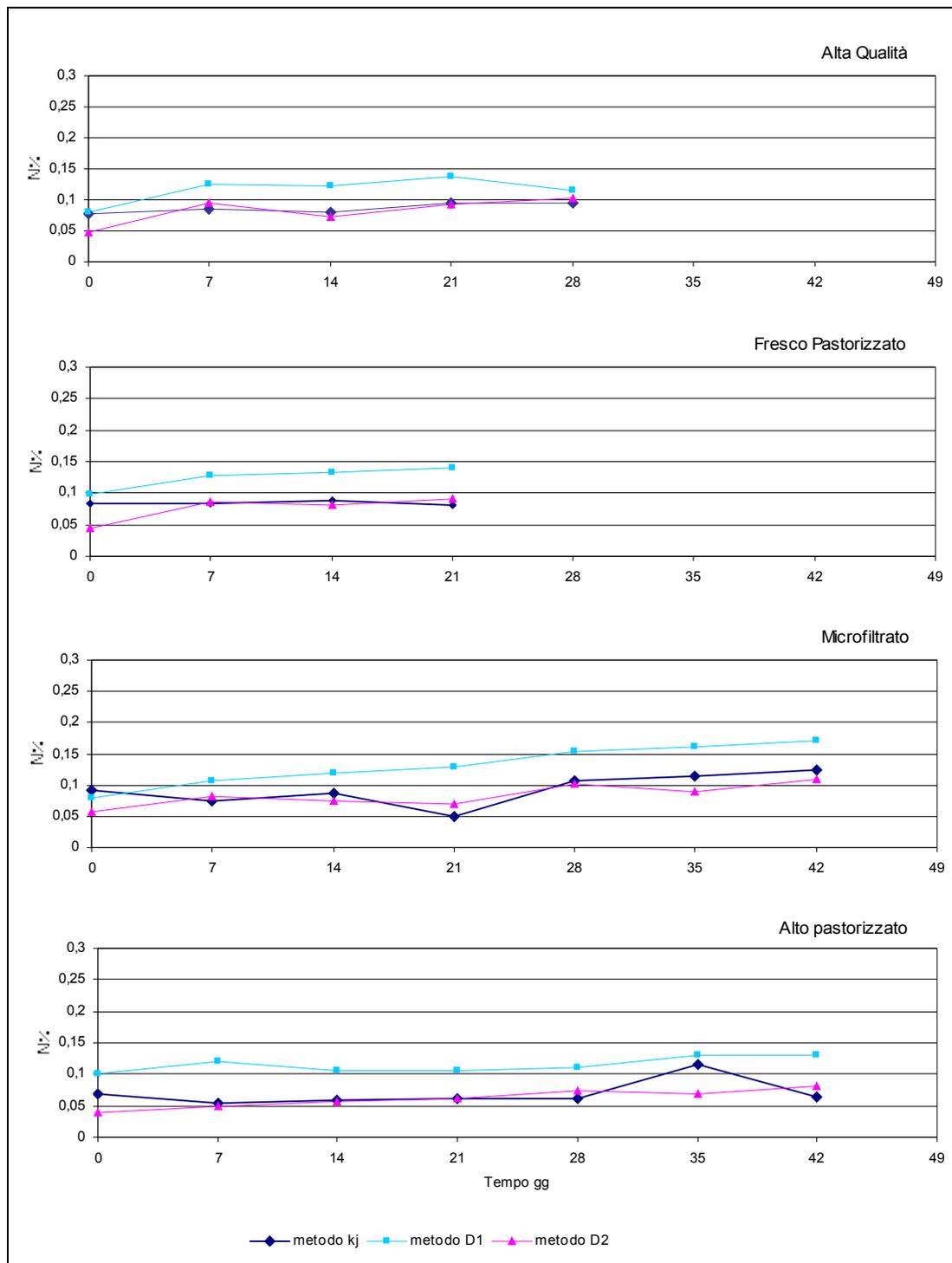
Dopo aver valutato i risultati del primo ciclo, si è ritenuto opportuno effettuare un secondo ciclo, adottando, per quanto riguarda le analisi con il metodo Dumas, una strategia operativa diversa. Nell'effettuare la determinazione proteica del siero, secondo quest'ultima metodica, si sono creati due metodi di riferimento con lo standard a due diverse concentrazioni di azoto (glicina allo 0,5% di N, metodo LATTE, e glicina allo 0,1% di N, metodo SIERO). Nel grafico 6, che riporta i valori dell'azoto contenuto nel siero di latte in riferimento ai risultati della tabella 3, sono individuate tre curve: una si riferisce al metodo Kjeldahl, mentre le altre due si riferiscono al metodo Dumas, ed in particolare i valori individuati dalla curva D1 si riferiscono al metodo LATTE mentre quelli della curva D2 al metodo SIERO.

L'andamento delle due serie di dati Dumas è concorde con quello della serie relativa al metodo ufficiale; dai risultati si evince che mentre i valori di D2 tendono a sovrapporsi a quelli della curva di Kjeldahl, quelli individuati dalla curva D1 sono sempre maggiori, confermando i risultati del primo ciclo.

Questo dimostra che, per garantire una maggiore accuratezza e precisione strumentale, è necessario costruire due curve di calibrazione diverse per le analisi da svolgere su latte e su siero utilizzando, come standard, di riferimento quelli con le concentrazioni che più si avvicinano al campione da analizzare.



**Graf. 5** Variazioni del contenuto di N% delle sieroproteine ricavate con i metodi Kjeldahl e Dumas (I° ciclo di analisi)



**Graf. 6** Variazioni del contenuto di N% delle sieroproteine ricavate con i metodi Kjeldahl e Dumas (II° ciclo di analisi)

### 3 Andamento delle sieroproteine

La percentuale di sieroproteine solubili rispetto alla percentuale totale di proteine presenti nel latte è, come già ricordato, un parametro legislativo discriminante per poter definire il latte pastorizzato nelle sue differenti tipologie.

Dalla percentuale di azoto risultante dalle analisi eseguite, si è calcolata la concentrazione delle sieroproteine solubili in percentuale rispetto alle proteine totali, come previsto dalla Legge 169/89. I valori, registrati il primo giorno sono i seguenti:

	Kjeldahl	Dumas
Fresco Pastorizzato	15,39	14,20
Alta Qualità	14,78	13,90
Microfiltrato	16,04	14,70
Alto pastorizzato	13,04	12,3

In riferimento all'andamento nel tempo (Tab.12 e Graf. 7), è interessante notare come il contenuto di sieroproteine tende ad innalzarsi. Per rendere più evidente questa tendenza, ai valori ottenuti dalle analisi, si sono aggiunte le rette di regressione lineare che meglio li interpolano.

Le frazioni che costituiscono le sieroproteine iniziano a denaturare a temperature diverse; le immunoglobuline sono le più sensibili al riscaldamento, di esse a 70°C viene denaturato l'89%; l' $\alpha$ -lattoalbumina è la più resistente ( a 70°C viene denaturato il 6%), la  $\beta$ -lattoglobulina, per la presenza nella sua molecola di un gruppo tiolo libero, ha una sensibilità intermedia (a 70°C viene denaturato il 32%), al contrario i proteosi-peptoni rimangono stabili ad un trattamento di 96°C (Alais, 2000)(Corradini, 1996). La BSA (albumina del siero di latte) rimane stabile durante il periodo di conservazione, la  $\beta$ -lattoglobulina e la  $\alpha$ -lattoalbumina tendono a complessarsi con la caseina ed i proteosi-peptoni ad aumentare. Quest'ultimo fatto è probabilmente causato dall'effetto delle proteasi termoresistenti prodotte principalmente da microrganismi psicrofili già presenti nel latte crudo e/o pervenuti dopo il trattamento termico.

Nel caso in cui si assiste ad un elevato valore di sieroproteine, non è sicuro se tale condizione sia motivata da un ottimale trattamento di pastorizzazione o da contaminazioni.

L'aumento del valore del rapporto tra le sieroproteine solubili e la quantità totale di proteine che si riscontra in un latte "vecchio" rispetto a quello iniziale (Graf.7), indica

l'incertezza di considerare tale parametro quale fattore discriminante nella valutazione di "freschezza" del latte, insita nello spirito della legge.

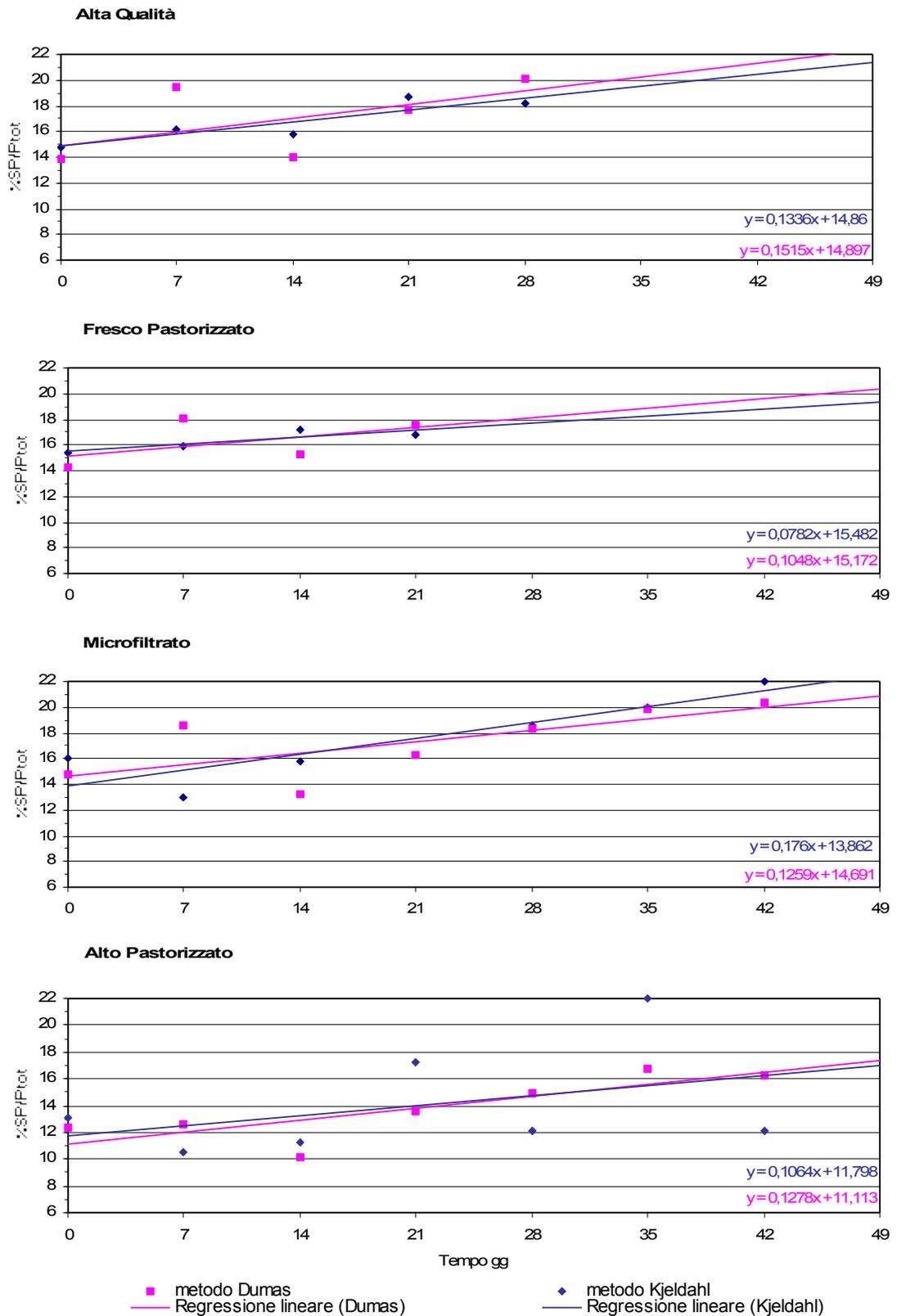
La variabilità del rapporto tra le componenti che costituiscono la frazione delle sieroproteine può portare a risultati diversi. A parità di temperature di pastorizzazione fra due campioni di latte, quello che presenta un maggior contenuto in proteine maggiormente termolabili, può risultare quantitativamente inferiore in sieroproteine solubili non denaturate. Erroneamente si potrebbe affermare che tale latte sia stato sottoposto ad un trattamento termico più aggressivo che commercialmente si traduce in una declassificazione del prodotto, mentre da quanto sopraesposto tale determinazione non è sufficiente a dimostrare il reale impatto termico.

Alla luce dei risultati ottenuti sarebbe opportuno valutare se i valori stabiliti dalla legislazione sono realistici e significativi al fine di individuare il trattamento termico subito dal latte.

		<b>0 gg</b>	<b>7 gg</b>	<b>14 gg</b>	<b>21 gg</b>	<b>28 gg</b>	<b>35 gg</b>	<b>42 gg</b>	<b>49 gg</b>
<b>Alta Qualità</b>	K	14,78	16,22	15,73	18,71	18,21			
	D	13,90	19,45	13,96	17,70	20,08			
<b>Latte Fresco</b>	K	15,39	15,87	17,17	16,78				
	D	14,20	18,04	15,29	17,56				
<b>Microfiltrato</b>	K	16,04	12,99	15,81		18,59	19,93	21,98	
	D	14,70	18,56	13,25	16,30	18,34	19,80	20,40	
<b>Alto Pastorizzato</b>	K	13,04	10,52	11,29	17,23	12,06	22,02	12,07	
	D	12,30	12,54	10,20	13,60	14,93	16,70	16,30	

K: Kjeldhal  
D: Dumas

**Tab. 12 Valori delle sieroproteine solubili in percentuale rispetto alle proteine totali**

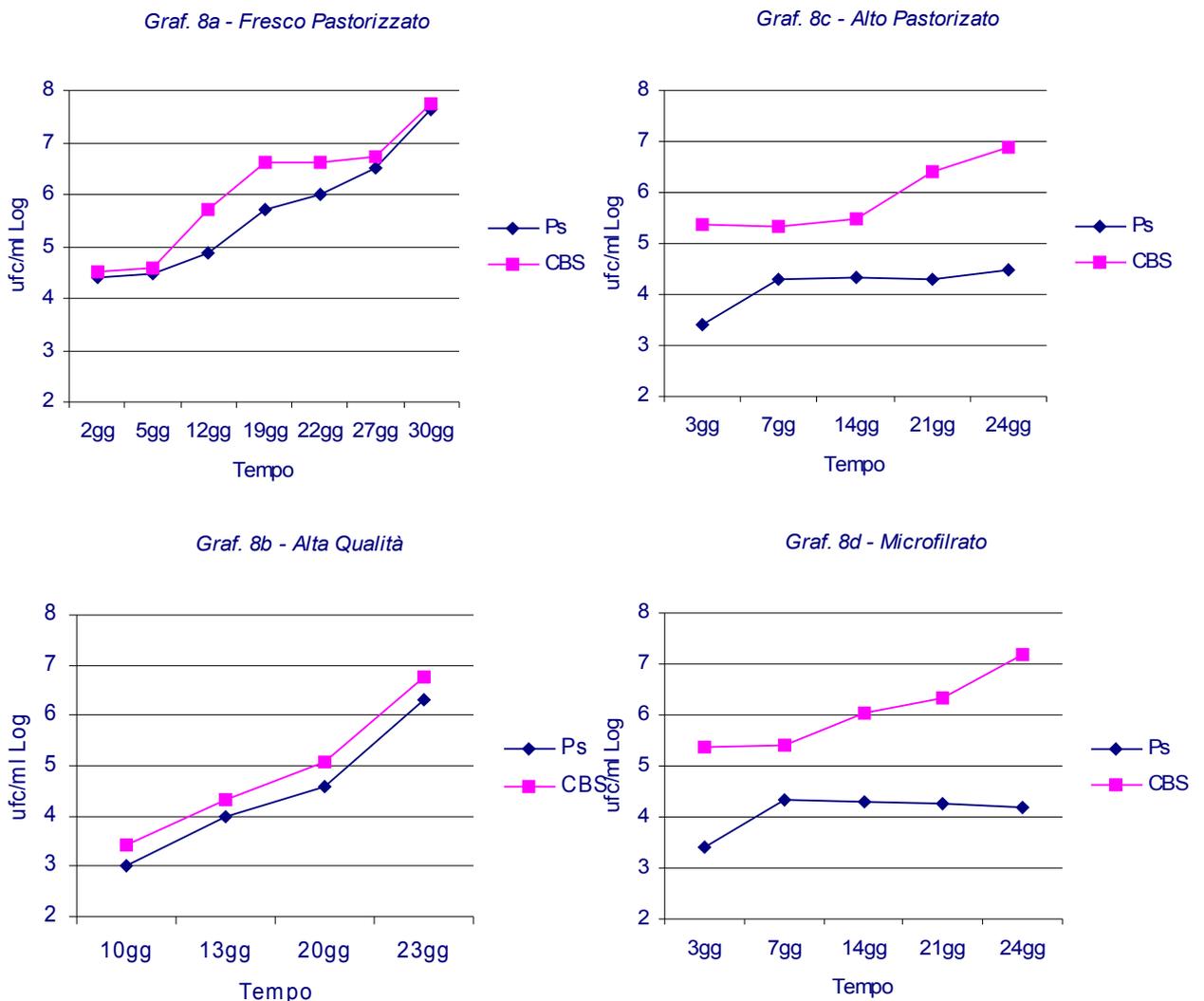


**Graf. 7** Variazioni del rapporto tra sieroproteine solubili e proteine totali nel tempo di conservazione ricavate con i metodi Kjeldahl e Dumas (II° ciclo di analisi)

#### 4 Andamenti dei parametri microbiologici

I quattro tipi di latte analizzati, presentano una lenta velocità di incremento delle due componenti microbiologiche tale da permettere una conservazione maggiore di 20 giorni alle temperature di conservazione previste dalle norme vigenti (Graff. 8). Gli andamenti dei due parametri evidenziano differenze marginali, in particolare la componente psicrofila, ritenuta più incisiva sulla conservazione del latte, tende a raggiungere valori superiori alle 500.000 ufc/ml, tali da poter alterare le strutture proprie del latte, tra i 15 ed i 20 giorni di conservazione. Gli ultimi valori riportati nei grafici, rappresentano il limite di conservabilità a 6-8°C dei singoli prodotti, poiché si è avuta la loro successiva coagulazione.

**Graff. 8 Andamento dei parametri microbiologici.**



## 5 Test di recupero

Ogni giorno di analisi, per ogni latte sono state costruite delle tabelle di bilanci di massa che riportano in entrata (input) i grammi di latte campionati, i rispettivi grammi di proteine ottenuti con le due metodiche Kjeldhal e Dumas, ed i quantitativi di sostanza secca, mentre in uscita (output), quelli relativi al siero ed alla cagliata (I ciclo) ottenuti dal latte di partenza. Qui di seguito se ne riporta un esempio (Tab. 13) riguardante il latte alta qualità al primo giorno di analisi. In Allegato 1 è riportato un esempio dell'intera tabulazione giornaliera dei dati raccolti per una singola tipologia di latte.

BILANCIO DI MASSA								
	INPUT				OUTPUT			
	Campione	Proteine		SS	Campione	Proteine		SS
	g	K	D		g	K	D	
Latte	49,84	1,60	1,67	5,99				
Siero					34,01	0,17	0,20	2,23
Precipitato					13,18	1,34	1,34	3,86
TOTALE	49,84	1,59	1,67	5,99	47,19	1,50	1,54	6,09
					OUT/IMP	OUT/IMP	OUT/IMP	OUT/IMP
					0,95	0,95	0,92	1,01

K: % di N determinato con il metodo Kjeldhal      D: % di N determinato con il metodo Dumas

**Tab. 13 Bilanci di massa (Latte alta qualità-17/09/2005)**

Il rapporto fra i dati (output/input) ha permesso di individuare le perdite che sono riconducibili a due momenti essenziali: il momento della separazione del siero, ed il momento delle analisi vere e proprie, in cui si hanno perdite specifiche per le diverse tipologie d'indagine. I valori ottenuti dai bilanci di massa con i relativi rapporti (output/input) ottenuti giornalmente per ogni latte sono stati raccolti in un'unica tabella (Tab.14) che ne esprime la media e la deviazione standard.

	MEDIA	DV,ST
$\frac{\text{campione in entrata (g)}}{\text{somma dei campioni in uscita (g)}}$	0,95	0,04
$\frac{\text{N (g) del campione in entrata}}{\text{N (g) della somma dei campioni in uscita (con metodo Kjeldahl)}}$	0,90	0,07
$\frac{\text{N (g) del campione in entrata}}{\text{N (g) della somma dei campioni in uscita (con metodo Dumas)}}$	0,93	0,08
$\frac{\text{Sostanza secca (g) del campione in entrata}}{\text{somma della sostanza secca (g) dei campioni in uscita}}$	1,00	0,03

**Tab. 14 Media e deviazione standard dei rapporti fra i dati in uscita e quelli in entrata**

Il significato di questa tabella, riveste un ruolo fondamentale per attribuire validità alle metodologie sperimentali utilizzate. Dai dati si rileva che l'RDS (deviazione standard relativa) è sempre inferiore a valori di 10 %, limite massimo stabilito prima di intraprendere la sperimentazione. I risultati ottenuti da questa rielaborazione statistica rappresentano un autocontrollo (GMP), che permette di affermare che le strategie operative da noi utilizzate sono attendibili.

## 6 Confronto fra i due Metodi

Per permettere un confronto diretto fra le due metodiche analitiche Kjeldahl e Dumas è stata effettuata una elaborazione statistica basata sulla “distribuzione del t di Student”. Le popolazioni considerate si basano sui valori di azoto, espressi in percentuale, nel latte, nel siero e nella cagliata.

I risultati di tale applicazione sono riassunti nella tabella 15.

<b>t-test P=0,01</b>					
	totale prove effettuate	uguali	diversi	uguali (%)	diversi (%)
<b>latte</b>	56	52	4	92,9	7,1
<b>cagliata</b>	35	35	0	100,0	0,0
<b>siero D1</b>	54	43	11	79,6	20,4
<b>siero D2</b>	15	14	1	93,3	6,7

D (1): La determinazione della % di N con il metodo Dumas è riferita alla glicina 0,5 % .

D (2): La determinazione della % di N con il metodo Dumas è riferita alla glicina 0,1 % .

**Tab. 15 Risultati del t-test**

Le due metodiche vengono definite diverse quando il risultato del t-test, calcolato in base alla media e deviazione standard fra i valori ottenuti sullo stesso campione con il Kjeldahl ed il Dumas, è inferiore o uguale a 0,01. Mentre non si può affermare che siano diverse quando questo valore è superiore a 0,01.

Dai dati riportati in Tab.15 possiamo affermare che:

- nel 100% delle prove fatte su cagliata i risultati non sono significativamente differenti, si può quindi affermare che non vi è differenza fra i risultati ottenuti;
- nel latte, così come nel siero analizzato con la metodica Dumas D2, circa il 93 su 100 dei risultati ottenuti non risultano essere significativamente differenti, si può quindi affermare che, nella maggioranza dei casi, non vi è differenza fra il Kjeldahl e Dumas;
- nel siero analizzato con la metodica Dumas D1, 80 volte su 100 i risultati ottenuti non sono significativamente differenti. Quindi, anche in questo caso, si vede come la metodica Dumas D1 è meno affidabile rispetto alla metodica Dumas D2;

- la metodica Dumas appare generalmente ben sovrapponibile a quella Kjeldahl anche nel siero quando però si prende in considerazione la giusta curva di calibrazione.

In teoria il metodo Dumas ed il metodo Kjeldahl non misurano lo stesso livello di proteine nei campioni; il metodo Kjeldahl misura l'azoto totale di tutte le molecole organiche contenute nel campione che sono state convertite in ammoniaca. L'azoto inorganico, che nei prodotti lattiero-caseari è attribuibile essenzialmente alla presenza di nitrati e nitriti, non è misurato dal metodo, poiché l'acido solforico utilizzato per la mineralizzazione nel metodo Kjeldahl non riesce a rompere i legami più forti che coinvolgono l'azoto (Pezzani et All., 1994), (Vinci et All., 1999).

L'elevata temperatura e le condizioni di combustione del metodo Dumas consentono invece di rilevare tutto l'azoto dei composti organici ed inorganici presenti nel campione. (Oggi il problema dell'azoto atmosferico è stato risolto con la messa in commercio di macchine specifiche che consentono la purificazione del campione da questo tipo di "inquinamento").

Normalmente nei prodotti lattiero-caseari il contenuto dei nitrati e dei nitriti non sono tali da giustificare un'eventuale differenza fra i risultati dei due metodi; il latte normale contiene 5 µg di NO<sup>-3</sup> /g di latte, cioè una concentrazione di N pari a 1,12 µg /g che si traducono in 0,0007% in proteine (AOAC, 1984).

Resta il fatto che i due metodi prevedono un procedimento di analisi completamente differente; mentre l'indagine secondo la metodica Dumas viene svolta con l'ausilio di strumentazioni quasi completamente automatizzate come l'analizzatore FP-528, la metodica Kjeldahl, anche dopo le modernizzazioni apportate al primo sistema, è caratterizzata ancora oggi da numerose fasi che richiedono l'intervento e l'esperienza dell'operatore. I picchi, che esulano dal trend grafico, dimostrano come in quest'ultimo metodo sia maggiore l'influenza di errori attribuibili sia all'operatore che ad eventuali inquinamenti dei prodotti utilizzati o dei numerosi materiali a cui è necessario ricorrere.

I vantaggi apportati dall'utilizzo della strumentazione Leco per effettuare le analisi secondo il metodo Dumas rispetto alla metodica Kjeldahl sono numerosi:

- assenza di inquinamento e di pericolosità: non si utilizza acido solforico e non è necessario operare con cappe e camini
- semplicità d'uso (anche grazie al software in dotazione)
- ridotto uso di vetreria di laboratorio;
- costo per analisi inferiore a quello del metodo Kjeldahl

- sistema di analisi completamente automatizzato; qualsiasi operazione analitica, eccetto la pesata del campione, è gestita dal software, che provvede quindi sia al controllo dello strumento che all'estrazione del dato finale.
- rapidità; l'analizzatore Leco fornisce una determinazione dell'azoto particolarmente veloce (3' circa).

La strumentazione Leco utilizzata, è accompagnata da un manuale semplice e dettagliato, cartaceo ed on-line, che consente all'operatore di effettuare con facilità sia la manutenzione ordinaria, come ad esempio la sostituzione del crogiolo e dei filtri, ed anche quella straordinaria, dovuta a rottura della componentistica la cui modularità ne rende particolarmente facile la sostituzione.

## 7 Latte UHT

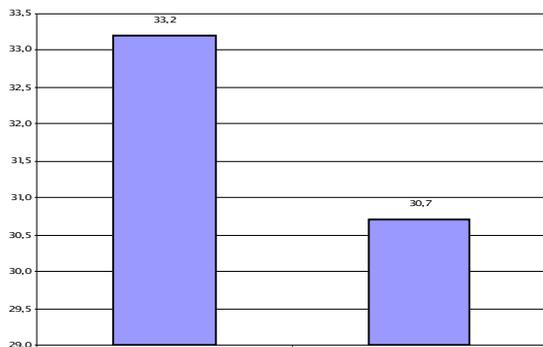
Le determinazioni analitiche hanno permesso di evidenziare la presenza di alcuni dei principali off-flavours presenti nel latte.

Nella tabella 17 e nel grafico 10 è rappresentato il confronto tra gli off-flavours riscontrati nel latte UHT parzialmente scremato della cooperativa trattato a 150 °C per 7''(coppia t/t° utilizzata allora dalla cooperativa) ed il latte UHT parzialmente scremato Parmalat Natura Premium.

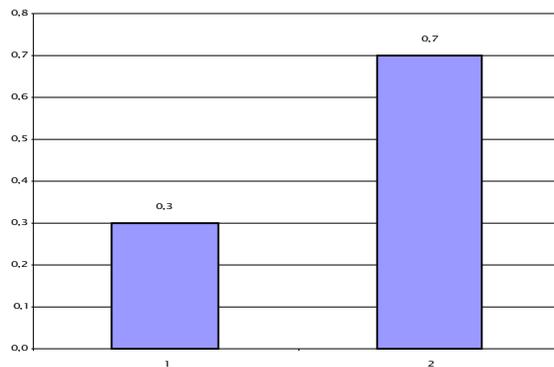
<i>Concentrazione ng/ml Campioni</i>		
<b>Analita</b>	<b>UHT parzialmente scremato Coop 150 °C per 7''</b>	<b>UHT parzialmente scremato Parmalat Natura Premium</b>
Acetone	33,2	30,7
Dimetilsulfide	1,4	Ass.
2-butanone	6,1	9,2
2-pentanone	1,2	1,9
Dimetildisulfide	0,3	0,7
Esanale	0,6	0,6
2-eptanone	6,4	7,0
Acido esanoico	Ass.	Ass.

**Tab. 17** Tabella comparativa del contenuto di off-flavours fra latte UHT della cooperativa e Parmalat parzialmente scremati.

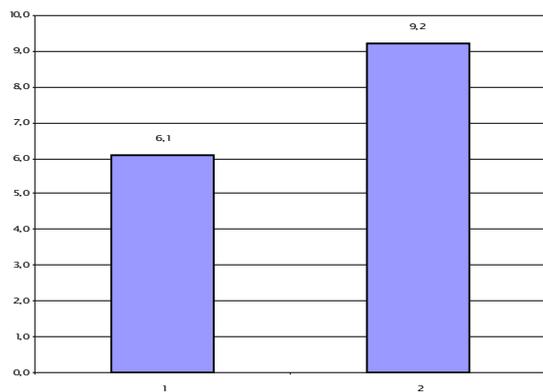
Acetone



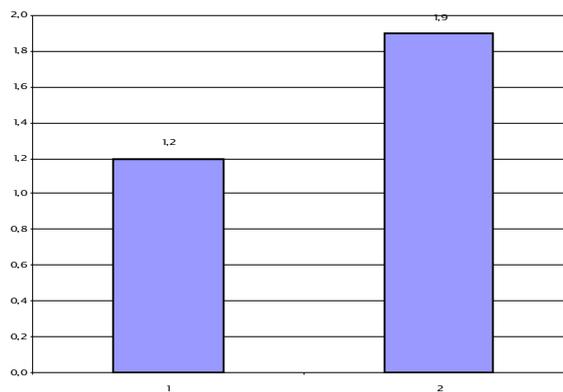
Dimetilidossifido



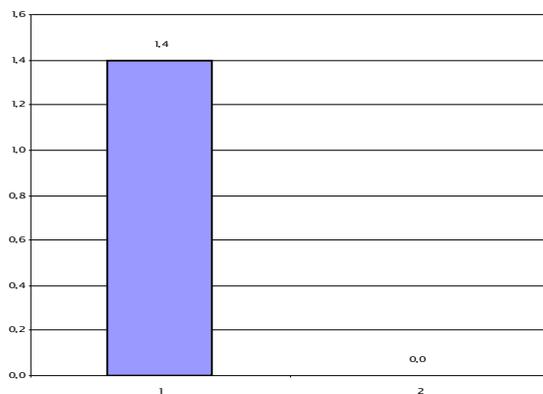
2-butanone



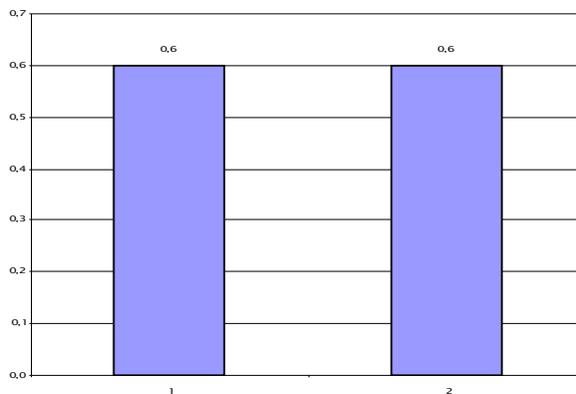
2-pentanone



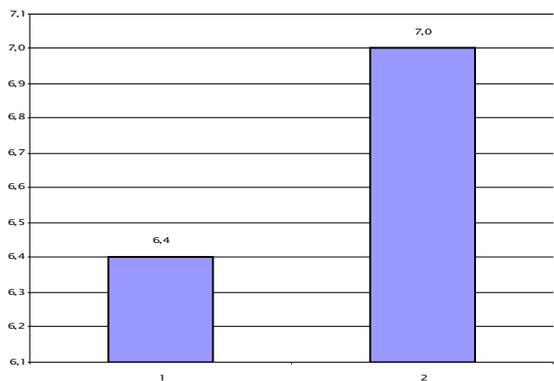
Dimetilsulfido



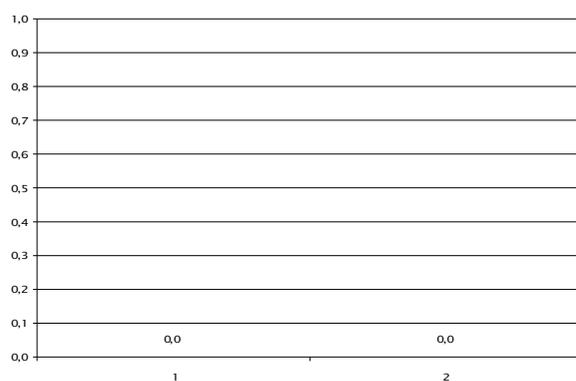
Esanale



2-eptanone



Acido esanico



Dalla tabella 17 e dal grafico 10, si evidenziano i principali composti presenti nei lattini UHT parzialmente scremati presi in considerazione. Da queste emerge che i prodotti analizzati, sono simili in rapporto ai composti sospettati di dare off-flavours. Si può ipotizzare che la differenza tra i due lattini, emerga durante la conservazione del prodotto, per motivi microbiologici, a causa di instabilità di qualche componente del latte intaccato da un eccessivo trattamento termico o da entrambi. Avendo escluso la possibilità di ri-contaminazione successiva all'uperizzazione, si è optato per la seconda ipotesi, suggerendo l'utilizzo di un trattamento termico di 146 °C per 3", invece che 150 °C per 7" già utilizzati, come confermano altri studi (Gandolfi et All., 2006). Di seguito si riportano le tabelle riassuntive 18, 19, 20 e 21, estratte dai relativi cromatogrammi, dei quattro lotti analizzati con i valori analitici ottenuti e le comparazioni effettuate.

<i>Concentrazione ng/ml Campioni</i>										
<b>Analita</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	UHT N.D.
Acetone	62,8	83,2	61,8	63,7	64,2	96,6	56,0	48,8	50,2	
Dimetilsulfide	3,2	1,1	1,9	1,0	1,5	1,2	2,1	1,7	5,5	
2-butanone	12,9	17,1	13,7	4,3	13,0	5,8	4,4	7,4	5,2	
2-pentanone	Ass.									
Dimetildisulfide	Ass.	Ass.	0,03	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Esanale	4,5	16,7	15,0	0,8	8,2	2,0	4,1	2,2	1,2	
2-eptanone	Ass.									
Acido esanoico	Ass.									

**Tab. 18.** Tabella riassuntiva del contenuto di off-flavours in campioni di latte crudo e UHT parzialmente scremato derivato, produzione del 28/02 (primo lotto).

<i>Concentrazione ng/ml Campioni</i>										
<b>Analita</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	UHT
Acetone	206,4	157,1	254,8	162,3	154,8	147,4	168,5	168,0	46,6	14,0
Dimetilsulfide	7,0	5,1	5,5	8,6	7,0	8,7	7,1	14,2	3,2	Ass.
2-butanone	32,2	20,8	22,4	35,8	32,6	18,4	26,7	19,0	27,0	4,1
2-pentanone	Ass.	Ass.	Ass.							
Dimetildisulfide	0,1	Ass.	0,1	Ass.	Ass.	0,06	0,2	0,07	Ass.	Ass.
Esanale	4,0	18,9	7,3	6,3	7,1	18,8	5,6	13,0	8,1	Ass.
2-eptanone	Ass.	Ass.	1,9							
Acido esanoico	Ass.	ass.	Ass.							

**Tab. 19** Tabella riassuntiva del contenuto di off-flavours in campioni di latte fresco e UHT parzialmente scremato derivato, produzione del 14/03 (secondo lotto).

Analita	Concentrazione ng/ml Campioni									UHT
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Acetone	75,5	144,0	122,0	143,0	83,1	225,8	115,0	165,0	127,6	22,5
Dimetilsulfide	6,3	3,5	31,0	11,9	24,6	34,9	3,1	41,9	8,5	Ass.
2-butanone	26,3	28,0	16,1	30,6	26,2	26,8	22,8	57,0	20,9	4,3
2-pentanone	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.
Dimetildisulfide	Ass.	Ass.	0,3	0,05	0,3	0,2	0,1	0,3	0,6	0,1
Esanale	3,1	42,0	2,4	9,5	4,3	5,6	12,4	5,8	4,2	0,5
2-eptanone	Ass.	0,2	Ass.	Ass.	0,2	Ass.	0,03	0,7	0,07	5,6
Acido esanoico	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	ass.	Ass.

**Tab. 20** Tabella riassuntiva del contenuto di off-flavours in campioni di latte fresco e UHT parzialmente scremato derivato, produzione del 17/05 (terzo lotto).

Analita	Concentrazione ng/ml Campioni									UHT
	1	2	3	4	5	6	7	8	N.D. (9)	
Acetone	136,9	130,9	176,6	157,6	168,0	245,2	123,3	112,3		11,0
Dimetilsulfide	9,6	4,0	6,4	2,7	4,1	4,9	4,8	3,4		Ass.
2-butanone	16,1	31,2	25,0	10,2	21,6	31,8	27,9	26,4		5,8
2-pentanone	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.		Ass.
Dimetildisulfide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.		Ass.
Esanale	1,6	16,4	1,9	1,0	8,1	1,7	3,0	3,1		Ass.
2-eptanone	Ass.	0,2	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.		0,3
Acido esanoico	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.		Ass.

**Tab. 21** Tabella riassuntiva del contenuto di off-flavours in campioni di latte fresco e UHT parzialmente scremato derivato, produzione del 08/06 (quarto lotto).

Dalle tabelle precedenti, si evince che:

- il formarsi degli off-flavours successivo al trattamento termico è di gran lunga inferiore con la nuova coppia tempo/temperatura applicata nella cooperativa;
- il trattamento termico è comunque utile nel diminuire gli off-flavours presenti nel latte crudo;
- la quantità inferiore di composti non consente la percezione di off-flavours sul prodotto finito.

La tabella 22 confronta il latte UHT della cooperativa alle due diverse coppie di tempo/temperatura.

<i>Concentrazione ng/ml</i>		
<i>Analita</i>	<i>Campioni</i>	
	<b>UHT PS coop 146°C/3”</b>	<b>UHT PS coop 150°C/7”</b>
Acetone	15,8	33,2
Dimetilsulfide	Ass.	1,4
2-butanone	4,7	6,1
2-pentanone	Ass.	1,2
Dimetildisulfide	Ass.	0,3
Esanale	Ass.	0,6
2-eptanone	2,6	6,4
Acido esanoico	Ass.	Ass.

**Tab. 22.** Tabella comparativa del contenuto di off-flavours nei latti UHT parzialmente scremati 150°C/7” e 146°C/3”(media dei valori tabb. 18-21).

Come si può notare, le principali molecole di off-flavours riscontrate nel latte crudo, dopo il trattamento tecnologico, tendono a ridursi drasticamente. In particolare l’acetone passa da un valore medio di 127,2 ng/ml (latte crudo) a 15,8 ng/ml (latte UHT). Ciò è principalmente dovuto all’ottimizzazione che è stata adottata dalla Cooperativa oggetto di studio del metodo di trattamento tecnologico UHT; infatti è stato migliorato il processo produttivo agendo a livello del trattamento termico riducendo, sia il tempo di contatto con il vapore che il carico termico abbassando la permanenza da 7 a 3 secondi; inoltre si è agito anche a livello dello stadio di formazione del vuoto, incrementando l’efficienza della pompa modificandone il valore da 0,2 a 0,6. Così facendo si ottiene una cospicua riduzione nel contenuto sia di acetone che degli altri costituenti. Infatti confrontando anche il valore del latte, successivamente alle modifiche dei parametri di produzione, con altri tipi di latte prelevati dal commercio, quello della Cooperativa è risultato con il minor contenuto in acetone, 2-butanone e 2-eptanone. Questo è confermato anche dal contenuto in off-flavours presente nelle acque di condensa dell’impianto, come è evidente nella tabella 23.

Analita	Concentrazione ng/ml Campioni	
	UHT PS coop 146°C/3"	Acqua di condensa (media di tre campioni)
Acetone	15,8	213,8
Dimetilsulfide	Ass.	21,3
2-butanone	4,7	82,7
2-pentanone	Ass.	0,6
Dimetildisulfide	Ass.	Ass.
Esanale	Ass.	5,6
2-eptanone	2,6	11,2
Acido esanoico	Ass.	Ass.

**Tab. 23 .Tabella comparativa del contenuto di off-flavours dei campioni di latte UHT parzialmente scremato 146°C/3" e dell'acqua di condensa dell'impianto di produzione**

L'unico svantaggio del trattamento UHT (riferito a questo studio) è che, essendo il 2-eptanone dipendente nella sua formazione dalla temperatura, questa è l'unica molecola che tende ad aumentare.

L'ultima cosa da verificare è se i due lattini UHT della cooperativa, prima e dopo la modifica dei parametri di produzione, riportano delle apprezzabili differenze in merito alla shelf-life dei prodotti. Le tabelle 24 e 25, mostrano un andamento della shelf-life del tutto simile tra i due prodotti. Il grafico 11 evidenzia l'evoluzione del pH e dell'acidità del latte UHT, trattato con le condizioni più blande di tempo e temperatura.

Prove all'alcool	GG di conservazione latte UHT trattato alla T di 150°C per 7"									
Date	23/6	30/6	28/7	25/8	29/9	27/10	7/11	21/11	4/12	18/12
Giorni	0	7	35	63	98	126	137	151	164	178
Latte UHT	-	-	-	-	-	-	-	-	70°	70°

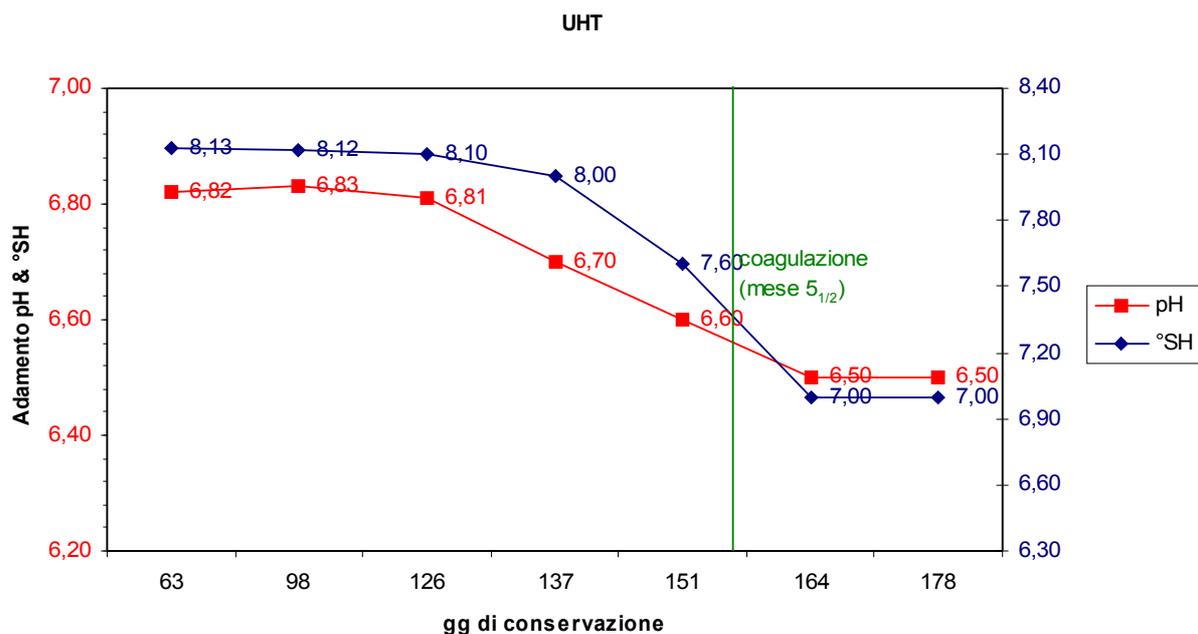
Prove al calore										
Date	23/6	30/6	28/7	25/8	29/9	27/10	7/11	21/11	4/12	18/12
Giorni	0	7	35	63	98	126	137	151	164	178
Latte UHT	-	-	-	-	-	-	-	-	5'	5'

**Tab. 24 Latte UHT trattato alla T di 150°C per 7".**

Prove all'alcool	GG di conservazione latte UHT trattato a T di 146°C per 3"									
Date	23/6	30/6	28/7	25/8	29/9	27/10	7/11	21/11	4/12	18/12
Giorni	0	7	35	63	98	126	137	151	164	178
Latte UHT	-	-	-	-	-	-	-	-	70°	70°

Prove al calore										
Date	23/6	30/6	28/7	25/8	29/9	27/10	7/11	21/11	4/12	18/12
Giorni	0	7	35	63	98	126	137	151	164	178
Latte UHT	-	-	-	-	-	-	-	-	5'	5'

**Tab. 25 Latte UHT trattato alla T di 146°C per 3".**



**Graf. 11** Andamento di pH ed acidità nel latte UHT a 146 °C per 3”.

## 8 Considerazioni conclusive della parte analitica

La stabilità del pH e dell'acidità di titolazione, unite con i risultati ottenuti dalle prove di stabilità nelle diverse tipologie di latte pastorizzato considerate, evidenziano come la shelf life potenziale del latte pastorizzato è maggiore di quella stabilita dalla legislazione (data di scadenza riportata sulla confezione).

Per quanto riguarda lo studio che è stato intrapreso per il confronto dei metodi per la determinazione del contenuto di azoto nel latte e nel siero (metodo Dumas e metodo Kjeldahl) i risultati del presente lavoro dimostrano che i dati ottenuti mediante l'analizzatore automatico di azoto (basato sul metodo a combustione Dumas) sono comparabili con il metodo Kjeldahl. La diversa accuratezza riscontrata tra i due metodi nell'analisi del siero durante il primo ciclo è stata risolta nel secondo ciclo con l'adozione, per il Dumas, di uno standard di riferimento “ad hoc” con un contenuto di azoto vicino a quello del campione da analizzare. Per questo motivo si ribadisce l'importanza di utilizzare la giusta curva di calibrazione in base al contenuto di azoto nel prodotto da analizzare, in particolare usare due curve diverse per l'analisi del latte e del siero. Dall'esame del metodo si evidenzia il costo contenuto, l'assenza di materiali tossici ed inquinanti, la rapidità di esecuzione e quindi la possibilità di eseguire un elevato numero di analisi soddisfacendo la richiesta delle industrie di settore.

La percentuale di sieroproteine solubili rispetto alle proteine totali non sempre ha dato evidenza di essere un buon parametro analitico per la classificazione merceologica delle diverse tipologie di latte. I dati da noi evidenziati sono anche confermati da altri studi svolti

presso la centrale del latte di Roma. Questa convinzione è nettamente supportata dai risultati ottenuti che mettono in evidenza la variabilità del valore di questo rapporto e soprattutto la tendenza di innalzarsi nel tempo di conservazione, dovuta essenzialmente allo sviluppo di microrganismi psicrofili. Nel caso in cui il latte presenti un elevato valore di sieroproteine, quindi, è difficile affermare con certezza che ha subito un ottimale trattamento termico, perché potrebbe semplicemente trattarsi di latte “vecchio”. Questa problematica assume maggiore significato quando parliamo delle nuove tipologie di latte, quali il microfiltrato e l’alto pastorizzato, che mantengono una stabilità (prove di stabilità, pH ed acidità di titolazione) anche molto tempo dopo la data di scadenza. Le sieroproteine assumono quindi non più il ruolo di rilevatori del trattamento termico subito dal latte, ma piuttosto quello di indici di invecchiamento del prodotto.

I risultati sperimentali ottenuti e la loro rielaborazione statistica hanno evidenziato la validità e l’attendibilità delle strategie sperimentali operative da noi utilizzate e, quindi, avvalorano le deduzioni che ne sono scaturite.

L’utilizzo della più idonea coppia tempo/temperatura nel latte UHT, comporta una buona diminuzione della formazione di off-flavours durante la produzione.

Più precisamente, con l’utilizzo dei parametri di processo più blandi, la somma fra la quantità di off-flavours prodotti durante questa fase e la differenza fra gli off-flavours presenti nel latte crudo e quelli eliminati durante il trattamento industriale, è notevolmente inferiore a quando le condizioni di trattamento sono, anche se di poco, più energiche.

Inoltre, non c’è nessuna differenza in merito alla shelf-life di tale prodotto, che con entrambe le coppie tempo/temperatura perde la sua stabilità, superati i 151 giorni di conservazione.

In merito all’andamento di pH ed SH, si nota una diminuzione del primo da un valore di 6.8 al 63° giorno fino a 6.5 al 164° giorno e contestualmente una diminuzione del secondo da un valore di 8.13 al 63° giorno fino a 7.00 al 164° giorno. Quest’ultimo andamento è giustificabile dall’avanzato stato di invecchiamento delle caseine.

In realtà, il limite di quest’ultimo studio, è che non dimostra con certezza che i composti individuati siano i veri responsabili del cattivo odore riscontrato. La responsabilità potrebbe essere attribuita ad altre sostanze che, pur avendo una sufficiente soglia di percezione odorosa, non sono rilevabili con la metodologia applicata.

Comunque, le deduzioni effettuate, vanno nella giusta direzione anche per questi composti (come dimostra la scomparsa del problema) e si continuerà questa indagine allo scopo di individuarli più precisamente.

## PARTE QUARTA

La rintracciabilità per il latte fresco in Italia è regolata dai termini del decreto 27 maggio 2004 del Ministro delle attività produttive e del Ministro delle politiche agricole e forestali, esso delinea anche i termini di scadenza dello stesso.

Tale decreto ministeriale modifica, alla luce dell'assetto delineato dalla legge 204/2004, la normativa sulla rintracciabilità del latte prevista già dal D.M. 24.07.2003, intesa ad assicurare la più ampia tutela degli interessi del consumatore.

Per mettere in pratica tutte le disposizioni dei suddetti regolamenti e delle suddette leggi, occorreva mettere a punto delle linee guida che permettessero di tracciare e rintracciare un alimento durante l'intera filiera agro-alimentare. Il 14 gennaio 2005 è stato emanato il decreto ministeriale recante la stesura del manuale aziendale per la rintracciabilità del latte, tramite delle linee guida.

Le linee guida hanno lo scopo di indirizzare gli operatori nella realizzazione e nell'applicazione del suddetto manuale, il quale deve contenere tutte le procedure e la relativa modulistica per la registrazione dei dati, indispensabili alla ricostruzione del percorso di produzione del latte fresco.

Nella stesura del manuale aziendale sulla rintracciabilità deve essere assicurata la continuità di tutte le fasi che portano alla ricostruzione della storia del prodotto; in sintesi ogni stadio non può ritenersi assestante.

I soggetti obbligati nel manuale aziendale per la rintracciabilità sono:

- i titolari degli allevamenti
- i primi acquirenti
- i titolari dei centri di raccolta
- i titolari dei centri di standardizzazione
- i trasportatori
- i responsabili delle aziende di trattamento

L'iter legislativo originato dal Reg.CE 178/2002 può essere considerato chiuso in Italia dal 5 aprile 2006, dopo l'emanazione del Decreto legislativo n. 190 che stabilisce la disciplina sanzionatoria per le violazioni al suddetto regolamento.

Si è proceduto quindi applicando le linee guida per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato alle aziende considerate concentrandoci principalmente su una di queste

costituita da una cooperativa di produttori di latte. Il latte prodotto da questa azienda è il fresco pastorizzato, intero e parzialmente scremato.

L'applicazione delle linee guida per il manuale aziendale per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato, è suddiviso in due parti, una generale ed una speciale. Nel caso della Cooperativa, ci si è trovati di fronte ad una realtà che ricopre gran parte dei soggetti obbligati riportati nel decreto del 27 maggio 2004, infatti, essa è un centro di raccolta, un centro di trattamento termico e dispone di un proprio parco di automezzi atti alla raccolta del latte crudo e alla distribuzione del latte fresco pastorizzato. Al riguardo, il manuale aziendale per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato, deve essere comprensivo di tutte le informazioni in grado di permettere la ricostruzione del percorso produttivo del latte.

Analizzando tutta la filiera produttiva del latte fresco pastorizzato all'interno della Cooperativa, è stato necessario studiare dapprima il piano di autocontrollo (HACCP) ed il piano Qualità applicato nell'azienda.

Tornando al concetto di rintracciabilità si possono identificare quali sono le compatibilità con il manuale di autocontrollo (HACCP) affiancando appunto l'applicabilità delle suddette linee guida in tutti i reparti produttivi.

#### **IV.1 DESCRIZIONE DELL'AZIENDA: “COOPERATIVA FRA PRODUTTORI DI LATTE CISTERNINO”**

Un gruppo di allevatori per lo più di origine ciociara (Filettino-Trevi nel Lazio) fondarono la “Cooperativa Produttori Latte Vaccino”, partecipando all'atto costitutivo, presso lo studio del notaio Mario Giuseppe Corbò, nella città di Latina, in piazza San Marco n. 6, il 27/09/1961.



**Fig. 1 Sede della cooperativa fra produttori di latte Cisternino**

Nel 1961 la Cooperativa era composta da 12 soci. L'attività casearia fu avviata presso l'ex caseificio a Cisterna di Latina in via Ugo Foscolo, 14. Con il passare del tempo il numero dei soci aumentò e di conseguenza aumentarono anche la produzione, l'affermazione sul mercato e la stima dei consumatori, infatti dal 1961, anno della nascita della Cooperativa, si arrivò nel 1968 a dei traguardi molto soddisfacenti:

1. numero dei soci 104
2. latte lavorato 6.939.509 litri, di cui:
  - latte vaccino 6.686.044 litri
  - latte ovino 118.767 litri
  - latte bufalino 134.698 litri
3. fatturato £560.000.000, pari ad €289.215,8635.

Nel tempo all'interno della cooperativa vi sono stati dei cambiamenti che hanno modificato l'assetto produttivo originario; infatti nell'anno 2000 vengono realizzate altre due importanti strutture di trasformazione, un frantoio e un centro di raccolta, stoccaggio e commercializzazione per il kiwi. L'attività casearia è stata sempre il punto di forza della Cooperativa fra produttori di latte Cisternino, basta pensare che nell'anno 1999 ha raccolto e trasformato 240.000 quintali di latte (pari a 24.000 tonnellate) per un fatturato di 40 miliardi di lire circa (pari a 20.658.276 euro). Il latte trasformato dalla Cooperativa fra produttori di latte Cisternino, proviene per il 60% dalle aziende dei soci e il rimanente 40% è acquistato in Italia. Per quanto riguarda l'aspetto commerciale, il Cisternino dispone di una buona rete di negozi propri, precisamente 104, di cui 99 dislocati nel territorio italiano e 5 a Parigi. All'interno di questi negozi non si trovano solo prodotti dell'azienda, ma è possibile acquistare molti altri generi alimentari forniti da aziende consociate; ad esempio vi sono alimenti biologici, vini e formaggi tipici, altro. La distribuzione è curata in maniera particolare ed attenta, in quanto è importante che il prodotto arrivi sempre nei tempi dovuti e nelle migliori condizioni di sicurezza e qualità.

I prodotti della Cooperativa, sono ottenuti da latte esclusivamente "italiano" di lattifere bovine e bufaline, in ottimo stato sanitario, cioè ufficialmente indenni da brucellosi e tubercolosi. Ogni giorno il latte è raccolto analizzato e stoccato nello stabilimento di trasformazione. Dopo aver eseguito i controlli sul latte crudo che, si passa alla quantizzazione del suo contenuto in grasso e proteine e alla determinazione dell'acidità. Al termine delle analisi si procede, da una parte alla caseificazione e dall'altra, alla pastorizzazione per l'ottenimento del latte fresco pastorizzato, intero e parzialmente scremato.

Prodotti (Fig. 2): mozzarella di bufala campana D.O.P., fior di latte, ovoline, ciliegine, burro, ceraselle, *latte pastorizzato intero e parzialmente scremato*, panna, cacio cisternino, caciotta, canestrato, burrata, bocconcini, caprini, caproni, caprini con rucola, caproni con rucola, treccia, caciocavallo, provola, provola affumicata, ricotta di vacca, ricotta mista, sfoglia di mozzarella, silani, siluri, pecorino.



Fig. 2 Alcuni dei prodotti della Cooperativa Cisternino

## IV.2 LINEE GUIDA PER LA RINTRACCIABILITÀ DEL LATTE FRESCO

### IV.2.1 INTRODUZIONE LEGISLATIVA

Il 12 gennaio 2000 la Commissione Europea ha emanato il “Libro Bianco” sulla sicurezza alimentare, un documento nel quale sono contenute le proposte finalizzate ad orientare la politica alimentare dell’UE verso l’obiettivo della sicurezza alimentare e del conseguente accrescimento della fiducia dei consumatori. Un tale approccio ha permesso sia la riconsiderazione dell’intera catena alimentare -“dai campi alla tavola”- applicata a tutti i settori alimentari, sia la concretizzazione di un obiettivo importante quale è quello della tutela del consumatore.

In seguito alle indicazioni del “Libro Bianco” e alla crisi causata dalla BSE l’Unione Europea ha emanato il Reg. CE 178/2002, il quale rappresenta il primo provvedimento

legislativo nato dal “Libro Bianco” ed instaura i più importanti principi metodologici che ricadono prevalentemente sotto la responsabilità “dell’Authority” e sono:

- *Analisi del rischio*: in cui l’Authority provvede alla valutazione e comunicazione del rischio, riservando la gestione del controllo del rischio alla Commissione;
- *Precauzione*: possibilità per uno Stato Membro di limitare o vietare, al suo interno, la commercializzazione di un prodotto legittimamente fabbricato e commercializzato in un altro Stato Membro o Paese Terzo, soltanto se si può giustificare la difesa di un interesse legittimo come la protezione della salute pubblica, adottando, comunque, sempre misure proporzionate e non campanilistiche;
- *Sussidiarietà*: necessità di cooperazione tra gli Organismi ed Istituzioni scientifiche degli Stati Membri e Paesi Terzi per assicurare validi, tempestivi ed affidabili supporti ai pareri scientifici formulati dall’Authority nelle emergenze;
- *Equivalenza*: gli alimenti ed i mangimi importati debbono soddisfare requisiti igienico-sanitari almeno equivalenti a quelli degli alimenti e dei mangimi di produzione propria esportati. Importante a tal proposito, comparare con l’alimento convenzionale quello di nuova produzione (importato o esportato) per verificarne l’essenziale, sostanziale o parziale equivalenza o non equivalenza;
- *Rintracciabilità*: ricostruzione della storia documentata dei passaggi e dei processi che hanno interessato l’alimento lungo tutto il percorso produttivo dalla produzione primaria alla trasformazione, alla distribuzione finale al consumatore (dal campo alla tavola). Tutto ciò provvedendo a segnare e tracciare tali percorsi per mezzo dell’etichettatura degli alimenti e dei mangimi (norma UNI 10939/2001: identificazione documentale dei flussi materiali e degli operatori di filiera. Norma UNI 11020/2002: sistemi di rintracciabilità nelle aziende agro-alimentari - numeri di registrazione dell’azienda alimentare – registri di identificazione dei fornitori) (Pagliarone, 2004).

Con il termine di tracciabilità, si intende il processo che segue il prodotto dal principio alla conclusione del suo percorso nella filiera produttiva. È un potente mezzo di comunicazione e di rassicurazione per il consumatore ed uno strumento di competizione fra le imprese. In particolare per quelle aziende che producono alimenti ad alto valore aggiunto, con espliciti riferimenti alla zona d’origine o ad alcune caratteristiche particolari che tendono a differenziarlo.

L'articolo 18 del Regolamento 178/2002 definisce la rintracciabilità come: “la possibilità di ricostruire e seguire il percorso di un alimento, di un mangime, di un animale destinato alla produzione alimentare o di una sostanza destinata o atta ad entrare a far parte di un alimento o di un mangime attraverso le fasi della produzione, della trasformazione o della distribuzione, ossia qualsiasi fase - importazione compresa - a partire dalla produzione primaria”. Il Regolamento prevede la rintracciabilità obbligatoria per tutti gli alimenti o mangimi a partire dal 1° gennaio 2005.

Il regolamento n. 178/2002 rappresenta un'ulteriore evoluzione nel processo di revisione della normativa comunitaria in materia di sicurezza alimentare, avviato alla metà degli anni '80 e che sempre più trova il suo baricentro nel consumatore e nella sua sicurezza. Il percorso per giungere ad una chiara definizione di tracciabilità e rintracciabilità, è stato abbastanza lungo e complesso.

È stata prodotta, in seguito, la norma tecnica, specifica UNI 10939:2001 che definisce le modalità con cui deve essere realizzato un sistema di rintracciabilità nelle filiere agro-alimentari. Il termine filiera individua, in questo contesto, tutte le attività ed i flussi che hanno rilevanza critica per le caratteristiche del prodotto e la rintracciabilità di filiera propone, pertanto, un modello di integrazione verticale fra le aziende della filiera e il completo coinvolgimento delle singole e reali responsabilità.

#### **IV.2.2 LINEE GUIDA PER LA STESURA DEL MANUALE DI RINTRACCIABILITÀ**

La rintracciabilità nel settore latte fresco è recepita in Italia dal Decreto MAP/MiPAAF 27 maggio 2004 recante attuazione della rintracciabilità e della scadenza del latte fresco, che si applica alle fasi produttive finalizzate all'ottenimento di latte fresco, di cui alla legge del 3 maggio 1989 n° 169 ed ottenuto con i procedimenti autorizzati in attuazione della medesima legge. Questo Decreto è supportato e modificato dal Decreto MiPAAF/MAP 14 gennaio 2005, che fornisce le linee guida per la stesura del manuale aziendale di rintracciabilità del latte. Di seguito è riportato un esempio delle linee guida per la produzione del “latte fresco pastorizzato” così come previsto dalla normativa vigente.

Le norme citate, indicano con precisione i soggetti coinvolti (soggetti obbligati) nella filiera produttiva del latte fresco e sono:

1. I titolari degli allevamenti,
2. I primi acquirenti,
3. I titolari dei centri di raccolta,
4. I titolari dei centri di standardizzazione,

5. I trasportatori,
6. I responsabili delle aziende di trattamento.

Le linee guida hanno lo scopo di chiarire i limiti degli obblighi legali di rintracciabilità degli alimenti, separandoli da quanto è invece possibile alle imprese fare a titolo volontario. Esse sono un'utile guida per le imprese, per meglio orientarsi nell'imponente mole di informazioni che circolano sul tema della rintracciabilità, informazioni che spesso confondono i problemi della sicurezza di cui si occupa la "rintracciabilità legale", con quelli che riguardano invece la rintracciabilità volontaria e che si occupano anche di marketing.

Il manuale aziendale per la rintracciabilità contiene una parte generale e una parte speciale. La parte generale include tutte le definizioni e i soggetti obbligati in grado di ricostruire la storia del prodotto finito in tutte le sue fasi e le parti comuni a tutti gli operatori della filiera, mentre la parte speciale mira ad esprimere la gestione delle attività produttive in ognuno dei soggetti obbligati sopra riportati.

Sia la parte generale, che quella speciale, presentano una suddivisione in paragrafi, i quali descrivono le disposizioni da rispettare nell'ambito della stesura del manuale aziendale per la rintracciabilità.

La formulazione dei manuali per la rintracciabilità non sono uno standard infatti, rispettando gli obblighi legali, se ne possono sviluppare molteplici in funzione delle caratteristiche aziendali. Proprio a tal riguardo, un'azienda atta alla produzione di latte fresco pastorizzato, può rappresentare il primo acquirente, il centro di raccolta, il centro di standardizzazione, il reparto trasportatori e l'azienda di trattamento; in questo caso il manuale aziendale per la rintracciabilità deve essere attuato per ogni flusso produttivo nel rispetto dei soggetti obbligati.

La parte generale ai sensi del comma n. 4, dell'articolo n. 5, del D. M. 27 maggio 2004 deve contenere:

1. le definizioni;
2. i riferimenti normativi;
3. la gestione della documentazione;
4. la gestione delle non conformità.

Le definizioni del manuale per la rintracciabilità sono attualmente enunciate nel DM del 27 maggio 2004 recante i termini della rintracciabilità in Italia ma, possono essere immesse altre definizioni che aiutino la comprensione del suddetto documento aziendale.

Nel paragrafo inerente ai riferimenti normativi sono immessi i riferimenti delle normative europee e nazionali che, codifichino gli obblighi relativi alla rintracciabilità aziendale: norme sanitarie, norme di riferimento produttivo, norme di codifica degli alimenti. Dopo aver formulato il proprio manuale aziendale per la rintracciabilità, se si verificassero dei cambiamenti nella legislatura riguardante il proprio settore alimentare, o modifiche dei processi produttivi, è previsto un aggiornamento del suddetto manuale, in quanto deve essere sempre in linea con le disposizioni nazionali e comunitarie riguardanti la rintracciabilità e la sicurezza alimentare.

Ad esempio:

- Legge 3 maggio 1989, n° 169, recante disciplina del trattamento e della commercializzazione del latte alimentare vaccino e sue modifiche ed integrazioni.
- Decreto ministeriale n° 185 del 9 maggio 1991, recante i requisiti per la produzione di latte fresco pastorizzato di alta qualità.
- Decreto legislativo del 27 gennaio 1992, n° 119 recante attuazione delle direttive n° 81/851/CEE, n° 81/852/CEE, n° 87/20/CEE e n° 90/676/CEE relative ai medicinali veterinari.
- Decreto del presidente della Repubblica 14 gennaio 1997, n° 54, concernente il regolamento recante attuazione delle direttive n° 92/46/CEE e n° 92/47/CEE in materia di produzione ed immissione sul mercato di latte e di prodotti a base di latte.
- ...*OMISSIS*...
- Decreto MiPAAF/MAP 14 gennaio 2005, che fornisce le linee guida per la stesura del manuale aziendale di rintracciabilità del latte;
- Decreto Legislativo 5 aprile 2006, n.190, concernente la disciplina sanzionatoria per le violazioni del regolamento (CE) n. 178/2002.

Subito dopo i riferimenti normativi nel manuale è descritta la gestione della documentazione, paragrafo molto importante, in quanto prevede le modalità di aggiornamento dello stesso. Gli aggiornamenti saranno eseguiti ogni qual volta vi siano degli adempimenti legislativi che, codifichino il prodotto o che modifichino la produzione e la conseguente commercializzazione del latte fresco pastorizzato. Il titolare dell'impresa è responsabile dell'archiviazione e della conservazione di tutta la documentazione che comprende anche tutte le registrazioni utilizzate ai fini della rintracciabilità del latte.

Le registrazioni devono essere conservate per almeno un anno salvo specifiche disposizioni legislative.

L'ultimo paragrafo della parte generale del manuale aziendale per la rintracciabilità, riguarda la gestione aziendale delle non conformità, il quale prevede tutte le registrazioni e le soluzioni adottate dall'azienda quando si verificano delle non conformità nel corso della filiera del latte fresco pastorizzato.

Per non conformità si intende:

a) la modifica temporanea e/o accidentale di una qualunque attività svolta rispetto alla medesima descritta nel manuale,

b) la perdita, da parte del prodotto, di uno qualunque degli elementi di identificazione della provenienza descritti nell'allegato B del decreto del 27 maggio 2004.

Se si verificassero delle non conformità di tipo a), l'azienda deve notificare il cambiamento temporaneo o accidentale dell'attività rispetto alla descrizione del manuale, comprensiva di data, descrizione dell'anomalia, identificazione della partita di latte e le azioni intraprese.

Nel caso si verificasse una non conformità di tipo b) si deve procedere all'identificazione della partita di latte, che ha perso gli elementi della rintracciabilità e informare in maniera cartacea o informatica i destinatari del prodotto, riportando sempre l'identificazione, la data e la descrizione dell'anomalia.

La parte speciale del manuale aziendale per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato, prende in considerazione ogni soggetto obbligato nella filiera produttiva, tracciando tutto il percorso inerente alla produzione dell'alimento in questione.

Sintetizzando:

- a) Il titolare dell'allevamento deve essere in grado di identificare e registrare su apposita documentazione tutte le operazioni e le modalità produttive del latte crudo e sua destinazione, inoltre è prevista la registrazione dei propri dati anagrafici, del numero aziendale(CUAA), del codice ASL e l'ubicazione dell'azienda. La rintracciabilità dell'allevamento prevede anche la registrazione di tutte le materie prime, dei disinfettanti, dei mangimi, dei farmaci, dei detergenti, e di tutti i prodotti che entrano nel ciclo produttivo del latte crudo sotto la completa e totale responsabilità dell'allevatore.
- b) Il primo acquirente deve formulare un manuale aziendale per la rintracciabilità contenente tutte le registrazioni e le identificazioni, inerenti alla produzione del latte. I primi acquirenti, sono tenuti a registrare la provenienza, specificando, l'ubicazione, la provincia, la nazione e i titolari degli allevamenti, che hanno fornito loro il latte. Inoltre il suddetto manuale deve contenere anche la destinazione del prodotto, specificando, se verrà venduto ad un centro di raccolta, ad un centro di standardizzazione o ad uno stabilimento di trattamento termico. In vista del concetto espresso precedentemente, il primo acquirente deve effettuare una descrizione del ruolo della propria azienda nella produzione di latte, in quanto occorre definire i mezzi, le strutture, e la gestione della stessa, nella produzione del prodotto.
- c) Il centro di raccolta deve definire nel proprio manuale aziendale per la rintracciabilità del latte, la sua ubicazione, il proprio sistema gestionale, la provenienza del latte, i diversi tipi di latte acquistato, le diverse destinazioni del latte, le differenze merceologiche dello stesso, se la raccolta è effettuata tramite un proprio parco macchine o affidata ad un'insieme di terzisti, le strutture e le attrezzature per lo stoccaggio. Inoltre deve essere precisato dal centro di raccolta la destinazione del latte, in quanto è molto importante ai fini della rintracciabilità disporre di tutti i flussi produttivi del prodotto. In molti casi il centro di raccolta può acquistare e vendere il latte ad altri centri di raccolta, a centri di standardizzazione o di trattamento.
- d) Il centro di standardizzazione deve descrivere nel manuale aziendale per la rintracciabilità del latte, la sua ubicazione, la gestione, la provenienza del latte, le differenze merceologiche, le attrezzature, lo stoccaggio in entrata, il trattamento di standardizzazione, lo stoccaggio dopo la standardizzazione, la vendita e la sua destinazione finale compresa quella dei prodotti secondari.
- e) Il trasportatore nel manuale aziendale per la rintracciabilità del latte deve riportare l'ubicazione, la provenienza del latte raccolto o trasportato, gli automezzi per il trasporto del latte, la destinazione del prodotto. Inoltre deve specificare il suo sistema gestionale inerente alle azioni sopra indicate, delineando tutte le fasi che condurranno il latte nel suo percorso produttivo.
- f) Lo stabilimento di trattamento nel manuale aziendale per la rintracciabilità del latte deve registrare, l'ubicazione, la provenienza del latte, lo stoccaggio in entrata, il trattamento termico eseguito, lo stoccaggio del latte trattato, il confezionamento, lo stoccaggio dopo il confezionamento, la vendita o distribuzione del prodotto. Ogni fase deve rispettare tutti i limiti riportati nelle norme vigenti nel settore lattiero-caseario in particolare legge 169/1989 e D.P.R. 54/1997. Devono essere annotate nel

manuale della rintracciabilità tutte le fasi produttive con le rispettive macchine ed analisi effettuate sul latte.

Tutte le precedenti disposizioni sono riportate nei Decreti del 27 maggio 2004 e del 14 gennaio 2005.

#### **IV.2.3 APPLICAZIONE DELLE LINEE GUIDA PRESSO LA COOPERATIVA**

Dopo aver descritto le linee guida, di seguito è riportata l'applicazione delle stesse nell'azienda Cooperativa fra produttori di latte Cisternino. Il latte prodotto da questa azienda è il fresco pastorizzato, intero e parzialmente scremato.

L'applicazione delle linee guida per il manuale aziendale per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato, come descritto nel paragrafo precedente, è diviso in due parti, una generale ed una speciale. Nel caso della Cooperativa, ci troviamo di fronte ad una realtà che ricopre gran parte dei soggetti obbligati riportati nel decreto del 27 maggio 2004 infatti, essa è un centro di raccolta, un centro di trattamento termico e dispone di un proprio parco di automezzi atti alla raccolta del latte crudo e alla distribuzione del latte fresco pastorizzato. Al riguardo, il manuale aziendale, deve essere comprensivo di tutte le informazioni in grado di permettere la ricostruzione del percorso produttivo del latte.

### **1. Parte generale**

#### **a) Definizioni:**

la rintracciabilità è definita dal Regolamento CE 178/2002 come la possibilità di ricostruire e seguire il percorso di un alimento, di un mangime, di un animale destinato alla produzione alimentare o di una sostanza destinata o atta ad entrare a far parte di un alimento o di un mangime attraverso le fasi della produzione, trasformazione e distribuzione, con l'obiettivo di realizzare uno strumento di garanzia per i consumatori.

Il presente documento si propone di illustrare il processo produttivo che è alla base della rintracciabilità di un prodotto, seguendolo dall'origine fino alla tavola del consumatore.

Il piano di attuazione prevede pertanto la costruzione di sette flussi produttivi che si articolano nell'ambito dell'intera filiera lattiero-casearia della Cooperativa fra produttori di latte Cisternino.

1. stalla,
2. raccolta latte crudo,
3. stoccaggio latte crudo,
4. trattamento termico,

5. stoccaggio latte trattato termicamente,
6. distribuzione,
7. vendita.

Ogni flusso produttivo non può prescindere dal precedente, in quanto le informazioni del prodotto rintracciato devono essere sempre in linea le une con le altre in tutti i reparti di produzione.

**b) Riferimenti normativi:**

- Legge 3 maggio 1989, n° 169, recante disciplina del trattamento e della commercializzazione del latte alimentare vaccino e sue modifiche ed integrazioni.
- Decreto ministeriale n° 185 del 9 maggio 1991, recante i requisiti per la produzione di latte fresco pastorizzato di alta qualità.
- Decreto legislativo del 27 gennaio 1992, n° 119 recante attuazione delle direttive n° 81/851/CEE, n° 81/852/CEE, n° 87/20/CEE e n° 90/676/CEE relative ai medicinali veterinari.
- Decreto del presidente della repubblica 14 gennaio 1997, n° 54, concernente il regolamento recante attuazione delle direttive n° 92/46/CEE e n° 92/47/CEE in materia di produzione ed immissione sul mercato di latte e di prodotti a base di latte.
- Decreto legislativo 26 maggio 1997, n°155, recante attuazione delle direttive n° 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l'igiene dei prodotti alimentari.
- Regolamento (CE) n° 2597/97 del consiglio del 18 dicembre 1997 che fissa le disposizioni complementari dell'organizzazione comune dei mercati nel settore del latte e dei prodotti lattiero caseari per quanto riguarda i latte alimentare.
- Decreto legislativo 4 ottobre 1999, n° 336 recante attuazione delle direttive n° 96/22/CE e n° 96/23/CE concernenti il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-antagoniste nelle produzioni di animali e le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti.
- Regolamento (CE) n° 1760/2000 del parlamento europeo e del consiglio del 17 luglio 2000 che istituisce un sistema di identificazione e di registrazione dei bovini e relativo all'etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carni bovine, e che abroga il regolamento (CE) n° 820/97 del consiglio.
- Regolamento (CE) n° 178/2002 del parlamento europeo e del consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare.
- Decreto legislativo 23 giugno 2003, n° 181 con il quale è stata recepita la direttiva n° 2000/13/ (CE) concernente l'etichettatura e la presentazione dei prodotti alimentari, nonché la relativa pubblicità.
- Direttiva 2004/41/CE del grande parlamento europeo e del consiglio del 21 aprile 2004, che abroga alcune direttive recanti norme sull'igiene dei prodotti alimentari e le disposizioni sanitarie per la produzione e commercializzazione di determinati prodotti di origine animale destinati al consumo umano e che modifica le direttive 89/662/CEE del consiglio e 92/118/CEE e la decisione 95/408/CE del consiglio .
- Regolamento (CE) 852/2004 del 29/4/2004 sull'igiene dei prodotti alimentari.
- Regolamento (CE) 853/2004 del 29/4/2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale.
- Regolamento (CE) 854/2004 del 29/4/2004 che stabilisce norme per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano.

- Regolamento(CE) 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29/4/2004 relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali.
- Decreto 27 maggio 2004 rintracciabilità e scadenza del latte fresco, che si applica alle fasi produttive finalizzate all'ottenimento di latte fresco di cui alla legge n° 169/89 ed ottenuto con i procedimenti autorizzati in attuazione della medesima legge.
- Decreto legge 24 giugno 2004, n° 157 concernente l'etichettatura di alcuni prodotti agro-alimentari, tra cui il latte fresco.
- Legge 3 agosto 2004, n. 204, concernente i nuovi adempimenti in materia di etichettatura dei prodotti alimentari, tra cui il latte fresco pastorizzato
- Decreto MiPAAF/MAP 14 gennaio 2005, che fornisce le linee guida per la stesura del manuale aziendale di rintracciabilità del latte;
- Decreto Legislativo 5 aprile 2006, n.190, concernente la disciplina sanzionatoria per le violazioni del regolamento (CE) n. 178/2002.

**c) Gestione della documentazione:**

tutta la documentazione del manuale per la rintracciabilità del latte fresco pastorizzato, deve essere gestita in modo tale, da consentire i controlli da parte delle autorità competenti e di essere aggiornata con facilità ogni volta che vengono emanate o modificate delle normative inerenti alla rintracciabilità del prodotto. La gestione della documentazione del manuale è affidata ad un operatore che, metodicamente provvede alla registrazione e all'archiviazione dei dati di ogni flusso produttivo. I dati registrati devono essere archiviati per almeno un anno. In fine la responsabilità dell'archiviazione dei dati rimane sempre assoggettata al titolare dell'azienda.

**d) Gestione delle non conformità:**

nell'ambito delle non conformità, l'azienda alimentare è tenuta a gestirle applicando delle soluzioni diverse, in osservanza delle differenti tipologie di non conformità, in quanto si deve sempre garantire la rintracciabilità del prodotto.

Per non conformità si intende:

a) la modifica temporanea e/o accidentale di una qualunque attività svolta rispetto alla medesima descritta nel manuale,

b) la perdita, da parte del prodotto, di uno degli elementi di identificazione della provenienza descritti nell'allegato B del decreto del 27 maggio 2004.

Se si verificassero delle non conformità di tipo a), l'azienda deve notificare il cambiamento temporaneo o accidentale dell'attività rispetto alla descrizione del manuale, comprensiva di data, descrizione dell'anomalia, identificazione della partita di latte e le azioni intraprese.

Nel caso si verificasse una non conformità di tipo b) si deve procedere all'identificazione della partita di latte, che ha perso gli elementi della rintracciabilità e

informare in maniera cartacea o informatica i destinatari del prodotto, riportando sempre l'identificazione, la data e la descrizione dell'anomalia.

## **2. PARTE SPECIALE**

### **Stalla**

- Dati anagrafici del titolare,
- ubicazione,
- numero aziendale(CUAA),
- numero ASL,
- identificazione dei capi (provenienza, razza, numero),
- tipo di rimonta (interna o esterna),
- tipo di stabulazione attuata nell'allevamento,
- zona e periodo di pascolo se attuato,
- provenienza degli alimenti,
- descrizione degli alimenti impiegati nella razione,
- tipo di somministrazione della razione,
- provenienza ed impiego dei medicinali,
- capi trattati ed esclusione del latte per il tempo di sospensione,
- tipo di mungitura,
- tempo di mungitura,
- quantità di latte prodotto.

### **Raccolta latte**

- Trasportatore ed automezzo (nome e targa),
- organizzazione dei giri di raccolta: percorsi e tempi,
- divisione stalle per automezzo,
- raccolta latte differenziata per tipo di destinazione (latte alimentare o per trasformazione),
- controlli operatore (visivo, olfattivo, alizarina, quantità, temperatura),
- prelievo campione giornaliero,
- compilazione di una pagellina di carico (ora di arrivo in stalla, nome dell'allevatore, quantità, temperatura, anomalie se presenti, ora di uscita dalla stalla),
- analisi accettazione (crioscopia, inibenti, acidità, temperatura, antibiotici, CBS, proteine, grasso, psicrofili e coliformi),

- modalità di scarico,
- stoccaggio in base alla destinazione.

#### **Stoccaggio del latte crudo**

- Quantità di latte scaricato,
- temperatura del latte scaricato,
- ora di arrivo,
- numero di silos utilizzato,
- tempi di scarico,
- tipologia di latte,
- tipo di destinazione industriale,

#### **Trattamento termico.**

- Analisi prima del trattamento termico (crioscopia, acidità, grasso, proteine, psicrofili),
- trattamento termico utilizzato,
- descrizione delle macchine utilizzate,
- analisi fosfatasi e perossidasi,
- confezionamento (controllo peso e temperatura),
- analisi corpi estranei, crioscopia, psicrofili, coliformi,
- stoccaggio (controllo temperature e tempi),
- identificazione del lotto e della data.

#### **Stoccaggio latte trattato termicamente.**

- Quantità di latte stoccata,
- temperatura della cella frigorifera al momento dello stoccaggio,
- tempo di permanenza,
- temperatura al momento del carico,
- lotto e data di confezionamento.

#### **Distribuzione.**

- registrazione temperature celle frigo,
- registrazione temperature camion,
- registrazione nome dell'autotrasportatore,
- registrazione della targa del camion,
- modalità e tempi,
- registrazione ora di carico,

- registrazione ora di arrivo nei punti vendita,
- registrazione tempi di sosta,
- registrazione temperature durante la distribuzione,
- registrazione ora di rientro in stabilimento.

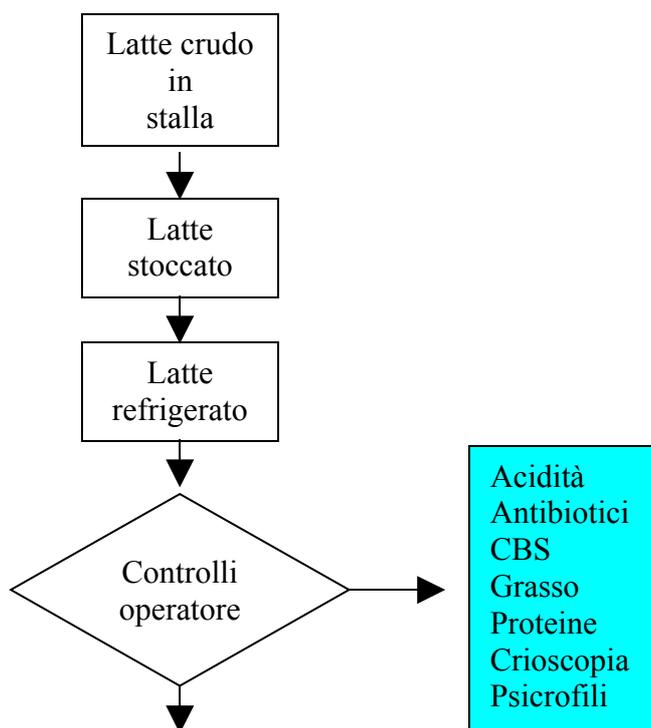
### Vendita

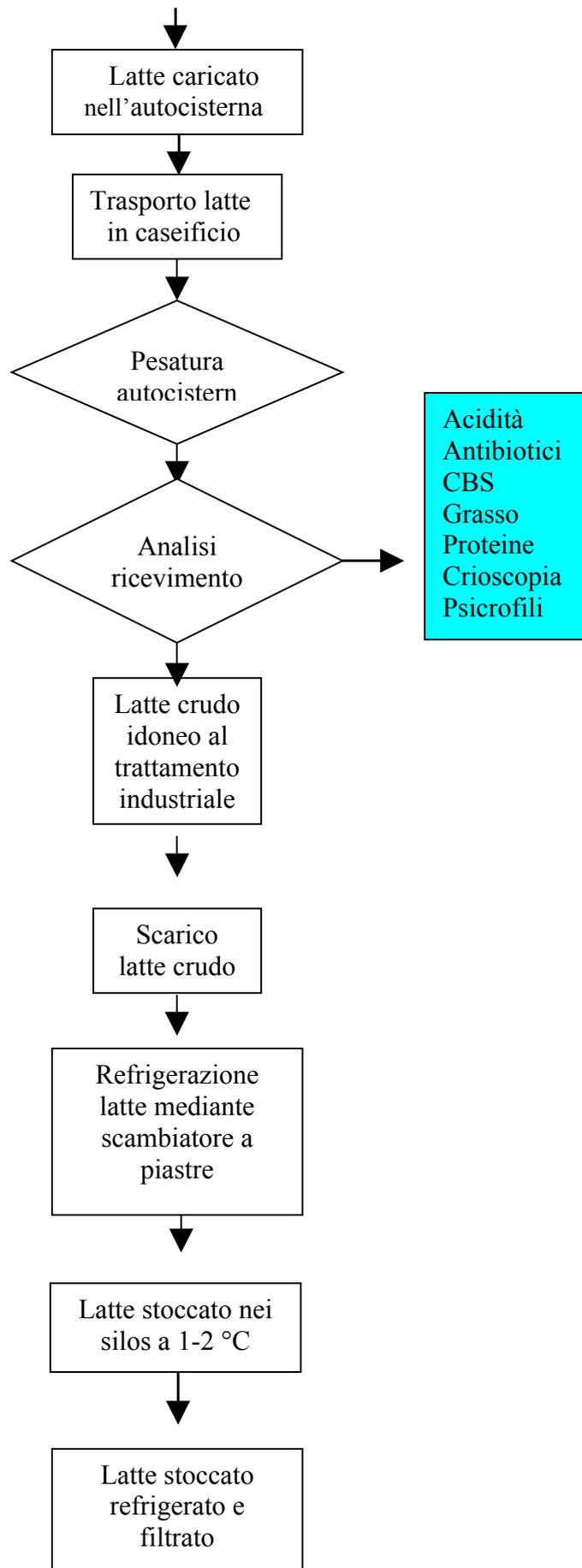
- Modalità,
- ora di arrivo della merce,
- nome dell'autotrasportatore,
- targa del mezzo,
- registrazione temperature di arrivo,
- quantità di prodotto scaricato,
- tempi di scarico,
- registrazione temperature dei banchi frigoriferi,
- registrazione di eventuali anomalie del prodotto,
- canale di comunicazione con i clienti per esigenze sulle qualità del prodotto o altro, tempi medi di vendita del prodotto.

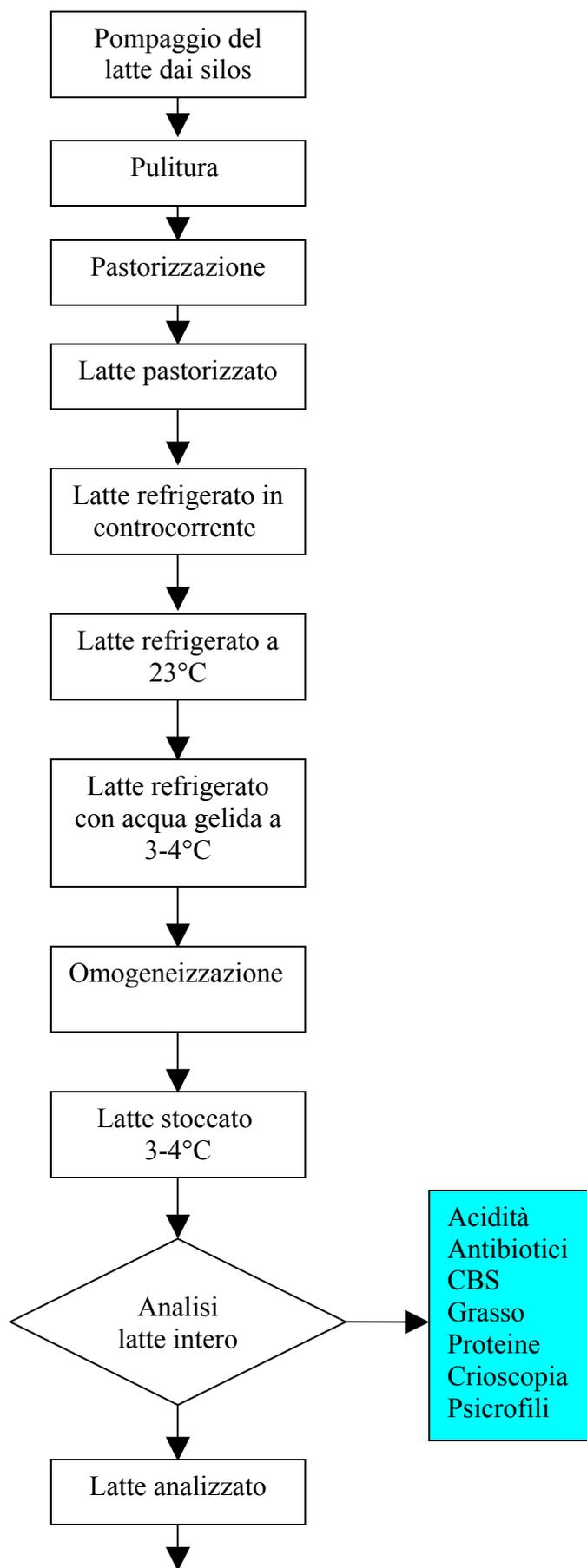
Nella figura 3, è descritto il flow-sheet di produzione del latte fresco pastorizzato utilizzato dalla Cooperativa.

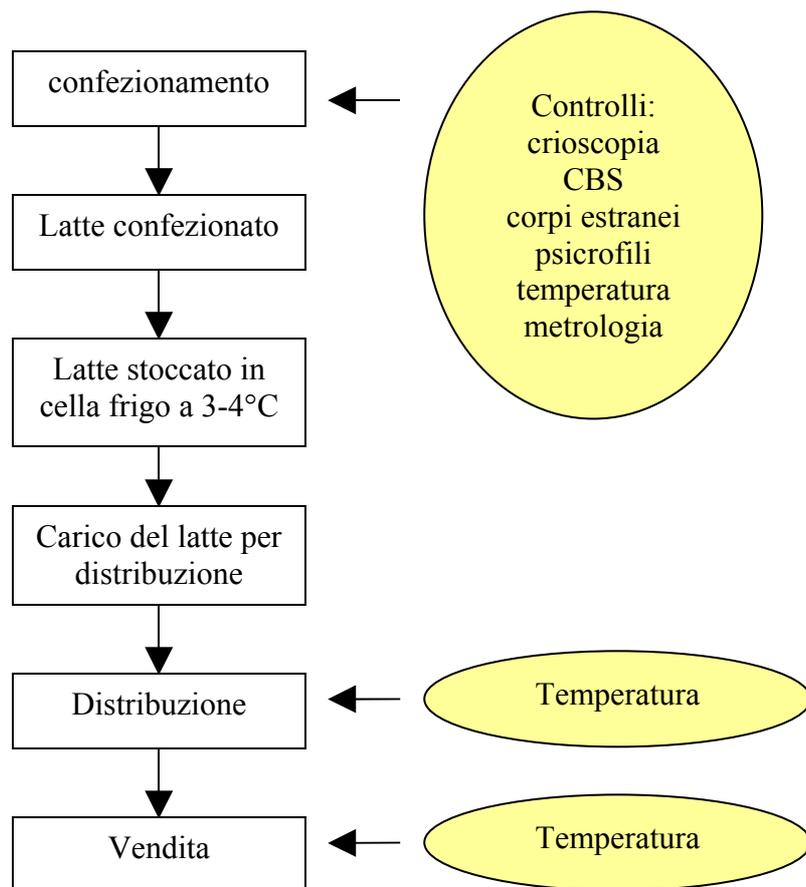
Nell' allegato A del presente manuale vi sono le schede per la rintracciabilità dei tutti i flussi produttivi.

**Fig. 3 Flow-sheet del latte fresco pastorizzato Cisternino**









#### IV.2.4 INTEGRAZIONE DEI SISTEMI DI RINTRACCIABILITÀ ED HACCP

I sistemi di rintracciabilità sono dei sistemi aziendale in grado, se attuate correttamente, di fornire tutta una serie di informazioni sull'evoluzione del prodotto finito, fin dall'ottenimento della materia prima. Il sistema di autocontrollo aziendale HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points), invece, si occupa di garantire la sicurezza del prodotto tramite una metodica di analisi per il controllo dei punti critici.

L'Italia ha recepito questo sistema, a fronte delle direttive Comunitarie 93/43/CEE e 96/3CE a loro volta attuate con la promulgazione del Decreto legislativo n. 155 del 26 maggio 1997. Le direttive 93/43/CEE e 96/3/CE recano le disposizioni per l'igiene dei prodotti alimentari.

Prima del suddetto regolamento in Italia era stato emanato il D.P.R. n. 54 del 15 gennaio del 1997 che recepisce le direttive CEE 92/46, 92/47, normative specifiche per il latte, atte a regolamentare la produzione in ogni sua fase, dalla produzione alla stalla al consumatore finale, prevedendo le norme sanitarie per la produzione e la commercializzazione del latte crudo, di latte trattato termicamente e di prodotti a base di latte.

La sigla HACCP si può considerare composta da due parti: la prima è formata dalle lettere HA e significa Analisi dei Rischi riferendosi ad un sistema di analisi che consente di individuare i rischi per la salute del consumatore che sono connessi al consumo di un dato alimento. La seconda parte della sigla CCP, è generalmente tradotta come Punti Critici di Controllo, ma la traduzione più appropriata dovrebbe essere Punti Critici di Prevenzione. Questo perché la parola controllo è spesso intesa come verifica analitica (Peri, 1997).

La disposizione dell'autocontrollo confermata anche nel D.P.R. 54/1997, obbliga ogni azienda lattiero-casearia ad adottare un sistema HACCP che si basa su tabelle di lavoro dove vengono riportate le diverse fasi e caratteristiche del processo. Questo permette di avere una completa e meticolosa panoramica dell'intero processo produttivo, in quanto possiamo seguire il prodotto dal ricevimento alla tavola del consumatore. Il sistema HACCP si basa su alcuni principi fondamentali che si possono applicare ad ogni prodotto delle industrie agro-alimentari:

- attuare l'analisi dei rischi relativi a ciascuna fase del processo produttivo e definire le misure di prevenzione per il controllo,
- identificare i punti critici all'interno del processo produttivo, per il controllo dei rischi,
- determinare dei limiti critici dei fattori che specificano ogni punto critico,
- definire i requisiti del monitoraggio dei punti critici di controllo in termini di sistemi di rilevazione, di frequenza, di responsabilità,
- delineare le azioni correttive da attuare quando il monitoraggio indica il superamento di un limite critico,
- prevedere delle misure di registrazione per assicurare e documentare l'efficacia del sistema,
- stabilire le procedure per assicurarsi che il sistema mantenga nel tempo la sua efficacia (Tresoldi, 1996).

Ogni azienda agro-alimentare deve costruire un proprio manuale di autocontrollo e soprattutto deve realizzare un proprio flusso produttivo con l'applicazione del sistema HACCP.

## Procedura per formulare e attuare il sistema HACCP

STADIO	ATTIVITA'
1	Selezionare il gruppo di lavoro
2	Definire lo scopo dello studio
3	Raccogliere i dati sul prodotto
4	Identificare la destinazione del prodotto
5	Costruire un diagramma di flusso
6	Confermare il diagramma di flusso
7	Elencare i rischi e le misure preventive
8	Determinare i CCP
9	Stabilire i limiti critici dei CCP
10	Stabilire un sistema di monitoraggio per i CCP
11	Stabilire un piano di azione correttivo
12	Stabilire una documentazione
13	Verificare
14	Rivedere

(Flair,1995)

Nella Cooperativa fra produttori di latte Cisternino è stato attuato un sistema di rintracciabilità avanzato, che pone al primo posto la sicurezza dei prodotti al riguardo della salute dei consumatori. Tutto ciò è stato possibile lavorando a stretto contatto con tutti i reparti di produzione, trasformazione e commercializzazione dell'azienda sopra citata, infatti il manuale per la rintracciabilità è stato reso parte integrante della produzione.

Come abbiamo visto anche la tracciabilità e la rintracciabilità seguono tutto il flusso produttivo dell'alimento. La differenza risiede all'inizio del sistema infatti, la tracciabilità e la rintracciabilità seguono il prodotto alimentare dalla produzione alla trasformazione fino alla commercializzazione, in tutte le sue fasi, al contrario, ritroviamo l'attuazione dei sistemi di autocontrollo a partire dalla trasformazione primaria.

Un perfetto connubio è quello di affiancare i due sistemi operativi, in quanto l'intersezione di tutte le informazioni tecnico-analitiche vanno a formare un'ampia interfaccia del prodotto ottenuto. Attualmente i due sistemi sono obbligatori per tutte le aziende agro-alimentari.

Per quanto riguarda il settore lattiero-caseario nel nostro Paese, la norma che regola la rintracciabilità è il decreto del 27 maggio 2004 concernente anche le disposizioni inerenti alla durata del latte fresco.

I due sistemi riescono a delineare il percorso di un prodotto dalla sua origine fino alla commercializzazione, tramite delle schede operative che sono compilate dagli operatori in ogni fase produttiva dell'alimento.

L'integrazione dei due sistemi di controllo è adottabile per ogni singolo prodotto dell'azienda, infatti l'applicazione dei manuali è specifica e di conseguenza variabile da un prodotto all'altro, anche nella stessa azienda agro-alimentare.

Integrando il sistema di autocontrollo aziendale HACCP con il manuale per la rintracciabilità, otteniamo un sistema avanzato di rintracciabilità interna; infatti il sistema HACCP può essere utilizzato per identificare le materie prime soggette a possibili criticità e valutare la possibilità di organizzare, per queste, un sistema di rintracciabilità più dettagliato. In particolare, la registrazione può essere estesa al codice di prodotto/lotto e dove possibile abbinare le singole forniture di materie prime ai singoli lotti di prodotto finito (flusso materiali), così da poter ricollegare il materiale utilizzato al prodotto finito, e viceversa.

Le informazioni sul flusso dei materiali possono essere altresì collegate a quelle inerenti il controllo del processo produttivo. In questo modo, sarà come ripercorrere la "storia del prodotto" attraverso tutti i flussi produttivi.

Un sistema avanzato di rintracciabilità, oltre a costituire un utile strumento per ottimizzare la produzione, può contribuire al contenimento dei costi che potrebbero derivare, in situazioni critiche, dall'attivazione di procedure di richiamo dei prodotti e conseguentemente alla perdita di denaro per lo smaltimento della stessa merce.

#### **IV.2.5 CONCLUSIONI RELATIVE ALL'APPLICAZIONE DEL SISTEMA DI RINTRACCIABILITÀ**

Il lavoro di questa parte di studio per il corso di dottorato di ricerca ha portato ad evidenziare il raggiungimento dei seguenti risultati:

Il sistema rintracciabilità riesce ad individuare e costruire tutto il percorso produttivo dell'alimento oggetto dello studio.

All'interno di un'azienda agro-alimentare tale sistema consente di avere un controllo preciso e meticoloso in tutte le fasi produttive.

Il suddetto sistema assicura e tutela il consumatore, nel rispetto delle disposizioni legislative, inerenti alla produzione, alla trasformazione e commercializzazione dei prodotti.

L'integrazione del manuale per la rintracciabilità con il manuale HACCP pone in risalto oltre che il controllo, anche l'individuazione dei punti critici, con le relative analisi effettuate periodicamente.

Importanza fondamentale è quella di tutelare la salute pubblica attraverso il rispetto del manuale, contenente tutti i riferimenti normativi a cui ogni azienda nel proprio caso deve rifarsi.

Informazione e formazione del personale con indubbi vantaggi per una gestione più corretta dei flussi produttivi.

Il sistema di rintracciabilità può permettere di ottenere anche vantaggi economici infatti, a livello di industria del latte, esistono ingenti perdite di prodotto causate dalla tipologia degli impianti, da problemi causati dalla materia prima, dalle tecniche di lavorazione, da eventuali errori durante la lavorazione, dalla impostazione della rete e dalle modalità di vendita. Tali perdite sono comunemente chiamate "calo fisiologico" e dovrebbero attestarsi sotto l'1% del totale del latte trattato. All'atto pratico tendono ad essere molto più grandi e possono raggiungere e superare il 4-5%. La corretta gestione della filiera potrebbe far calare l'entità del "calo fisiologico" con notevoli risparmi economici. Ad esempio, prendendo in esame la situazione produttiva della Cooperativa fra produttori di latte Cisternino, si osserva che attuando un sistema di rintracciabilità interna avanzato, si possono raggiungere dei risultati molto interessanti sia dal punto di vista economico che d'immagine dell'azienda sul mercato. Precisamente la Cisternino trasforma giornalmente 50.000 litri di latte; riducendo il calo fisiologico solo di un punto percentuale (1%), si recuperano circa 500 litri di latte al giorno ed attribuendo ad esso un valore medio di mercato, tra il latte alimentare e il latte caseificato, pari a 1,5 €, moltiplicato 300 giorni lavorativi, si ottiene un risparmio economico di 225.000 € all'anno. Un tale risparmio potrebbe finanziare un'attività di ricerca e sviluppo prodotti che contribuirebbe ad aumentare la produttività, la posizione e l'immagine sul mercato.

Di seguito sono riportate le 8 schede progettate ed utilizzate per reperire i dati relativi al sistema di rintracciabilità parzialmente integrate con il sistema di autocontrollo durante la produzione, trasformazione e commercializzazione del latte fresco pastorizzato intero e parzialmente scremato.

## 1. RILEVAMENTO DEI DATI SULLA PRODUZIONE DI LATTE CRUDO ALLA STALLA

### Notizie generali sull'azienda e sull'allevamento

- Codice aziendale .....
- Nome e Cognome del proprietario dell'azienda .....
- Ubicazione dell'azienda.....
- Conduzione.....
- Numero addetti..... di cui salariati.....

### Sviluppo futuro indirizzato a:

- Riduzione dei costi
- Aumento produttività/capo
- Acquisto quote ed incremento produzione aziendale
- Aumento qualità: tenore grassi
- tenore proteine
- tenore cellule somatiche
- altro .....

### Situazione attuale

- Numero di capi in mungitura.....
- Numero di capi in asciutta.....
- Durata media dell'asciutta.....
- Razze presenti in allevamento.....
- Numero di capi per razza.....
- Tipo di rimonta (interna o esterna).....

### Tipologia di allevamento

- Tipo di stabulazione: fissa
- libera
- lettiera permanente
- cucette
  
- Attuazione di pascolo SI NO
- Presenza di strutture per animali malati SI NO
- Presenza di sala di attesa SI NO

### Tipologia di alimentazione

- PROVENIENZA DEGLI ALIMENTI:  
Tipo di alimento.....
- Provenienza.....
- Fornitori.....
- Raccolta schede fornitori.....
- Tecnica di alimentazione: tradizionale
- unifeed
- distribuzione in un'unica razione
- distribuzione in più soluzioni
  
- Attuazione dello Steaming-up SI NO  
se sì indicare la durata .....

- Presenza di auto- alimentatori SI NO
- Razione somministrata (quantità/capo)

Alimenti (quantità/capo)	Asc.	Steaming	Trans.	Fresche	Metà	Fine	Altro
Silomais							
Insilato loietto							
Insilato polifita							
Insilato medica							
Insilato grano							
Insilato triticale							
Fieno medica 1°							
Fieno medica 2°							
Fieno polifita							
Fieno avena							
Paglia							
Polpe secche							
Polpe fresche							
Seme di cotone							
Glicole propilenico							
Soia F.E.							
Pesce							
Panello Lino							
Girasole F.E.							
Semola glutinata							
Glutine							
Orzo							
Mais							
Crusca							
Concentrati industriali							
Concentrati aziendali							
Integratori min. vit.							
Lieviti							
Altro							

### Pericoli nell'alimentazione (CCP)

- Si sono verificati problemi di micotossine? SI NO
- Si sono verificati problemi di residui tossici vari? SI NO
- Altro .....

### Struttura

- Mangiatoia: spazio/capo.....  
lunghezza.....  
numero capi.....  
liscia SI NO  
rugosa SI NO  
pulizia.....
- Trincea per il silomais: lunghezza .....  
altezza .....  
larghezza in metri del fronte.....  
larghezza del taglio fresco .....  
canale di scolo SI NO
- Presenza di silos per concentrati: SI NO quanti?.....  
tempo di svuotamento.....  
intervallo di pulizia .....  
prodotti utilizzati .....

- Numero capi trattati farmacologicamente nell'anno precedente.....
- Provenienza dei farmaci.....

Data.....

Firma.....

## 2. RILEVAMENTO DATI ALLA MUNGITURA

ORA INIZIO MUNGITURA	MATTINA	ORA FINE MUNGITURA		MATTINA	QUANTITA' MATTINA		QUANTITA' SERA	
	SERA			SERA				
<b>CONTROLLO IMPIANTI</b>								
LETTURA PRESSIONE DURANTE LA MUNGITURA					CONTROLLO N° FILTRI CAMBIATI			
INIZIO	META'		FINE	MATTINA		SERA		
<b>TEMPERATURE FRIGORIFERO</b>					<b>DESTINAZIONE ACQUE DI LAVAGGIO</b>			
A DUE ORE DALLA MUNGITURA	MATTINA		SERA		FOGNA <input type="checkbox"/>	TERRENO	POZZETTO <input type="checkbox"/>	
	°C	L	°C	L				
AL CONFERIMENTO	°C	L	°C	L	DESTINAZIONI ALTERNATIVE <input type="checkbox"/>			
<b>REGISTRO LATTE</b>								
N° VACCHE MUNTE	QUANTITA' DI LATTE TOTALE			QUANTITA' DI LATTE CONFERITO		QUANTITA' DI LATTE NON CONFORME		
<b>REGISTRO NUMERO VACCHE COLOSTRO</b>								
N°	MARCHE AURICOLARI DELLE BOVINE COLOSTRO							
CODICE AZIENDALE _____								
<b>REGISTRO NUMERO VACCHE TRATTATE FARMACOLOGICAMENTE</b>								
N°	MARCHE AURICOLARI DELLE BOVINE TRATTATE FARMACOLOGICAMENTE							
CODICE AZIENDALE _____								
<b>CONTROLLO CONFORMITA' UNIFEED</b>								
LUNGHEZZA .....	OMOGENEITA'	QUANTITA'	ORA SOMMINISTRAZIONE	N° ALIMENTI	N° LAVAGGI			

Data.....

Firma.....

### 3. RILEVAMENTO DATI DURANTE LA RACCOLTA DEL LATTE CRUDO E ACCETTAZIONE

Trasportatore	<i>nome cognome</i>			Automezzo				XY113KZ	
Giro di raccolta(n°)	1	2	3	<b>PROMEMORIA ORDINE GIRO</b>				<b>STALLA 1</b>	
Ora inizio giro								<b>STALLA 2</b>	
Ora fine giro								<b>STALLA 3</b>	
Latte alimentare	Giro		M					<b>STALLA 4</b>	
Latte trasformazione			S					<b>STALLA 5</b>	
T°arrivo centrale		L arrivo centrale						<b>STALLA N</b>	
	Ora entrata	Ora uscita	Litri	T°	C.V	C.O.	Aliz.	Camp.	Note
<b>STALLA 1</b>									
<b>STALLA 2</b>									
<b>STALLA 3</b>									
<b>STALLA 4</b>									
<b>STALLA 5</b>									
<b>STALLA N</b>									
<b>DATA</b>	_____	Firma trasportatore				<i>nome cognome</i>			
Criosc.	Inibenti	Acidità	pH	T°	CBS	Prot.	Grasso	Psicr.	Coli
Densità	Cel.som	R.S.M.	Fosfatasi	<b>STALLA 1</b>					
Criosc.	Inibenti	Acidità	pH	T°	CBS	Prot.	Grasso	Psicr.	Coli
Densità	Cel.som	R.S.M.	Fosfatasi	<b>STALLA 2</b>					
Criosc.	Inibenti	Acidità	pH	T°	CBS	Prot.	Grasso	Psicr.	Coli
Densità	Cel.som	R.S.M.	Fosfatasi	<b>STALLA N</b>					
Criosc.	Inibenti	Acidità	pH	T°	CBS	Prot.	Grasso	Psicr.	Coli
Densità	Cel.som	R.S.M.	Fosfatasi	<b>MASSA</b>					
NOTE:									
<b>DATA</b>	_____	Firma analista				<i>nome cognome</i>			

#### 4. RILEVAMENTO DATI NEL REPARTO STOCCAGGIO LATTE CRUDO

Nome e cognome dell'addetto al reparto:.....

	Silos n°1	Silos n°2	Silos n°3	Silos n°4	Silos n°5	Silos n°6
Ora di scarico	:	:	:	:	:	:
Targa automezzo						
Quantità latte scaricato						
Temperatura silos						
Temperatura autobotte						
Temperatura silos dopo 2h dallo scarico						
Capienza silos						
Tempi di scarico						
Tipologia di latte						
Tipo di destinazione industriale						

DATA.....

FIRMA.....

#### 5. RILEVAMENTO DATI DEI LATTE FRESCO PASTORIZZATO INTERO E PARZIALMENTE SCREMATO(TRASFORMAZIONE)

INTERO  PARZIALMENTE SCREMATO

NOME E COGNOME DELL'ADDETTO AL REPARTO.....

ORA DI INIZIO PROCESSO.....

ORA DI FINE PROCESSO.....

QUANTITÀ DI LATTE DA LAVORARE.....

#### CARATTERISTICHE DEL LATTE DA LAVORARE PRIMA DEL PROCESSO

- ACIDITÀ .....
- PROTEINE .....
- GRASSO .....
- ANTIBIOTICI .....
- CBS.....
- CRIOSCOPIA.....
- CELLULE SOMATICHE .....
- TEMPERATURA .....



## 6. RILEVAMENTO DATI NELLA FASE DI STOCCAGGIO LATTE CONFEZIONATO

Nome e cognome dell'addetto.....

TIPOLOGIE DI ALIMENTI							
Tipo	T° di sosta	T° al carico	T° celle frigorifere	Quantità	Lotto	Data	Macchina Con fez.
LFP INT.							
LFP PS							
Fior di Latte							
Ceraselle							
Ovoline							
Nodini							
Treccione							
Silani							
Siluri							
Bocconcini							
Treccie							
Ricotta mista							
Caciotta C.							
Moz. Bufala							
Ciliequine							
Canestrato							
Rotelle							
Caprini							
Caproni							
Provola							
Provola aff.							
Caciocavallo							
Caciocav. aff.							
Burro							
Burrata							

DATA.....

FIRMA.....

## 7. RILEVAMENTO DATI NEL REPARTO DISTRIBUZIONE

Nome e cognome dell'autotrasportatore.....  
 Targa automezzo.....

### Controlli alla partenza:

- Ora di inizio carico.....
- Ora di fine carico.....

TIPOLOGIE DI ALIMENTI				
Tipo	Quantità	Lotto	Data	Macch. confez.
LFP INT.				
LFP PS				
Fior di Latte				
Ceraselle				
Ovoline				
Nodini				
Treccione				
Silani				
Siluri				
Bocconcini				
Trecce				
Ricotta mista				
Caciotta C.				
Moz. Bufala				
Ciliequine				
Canestrato				
Rotelle				
Caprini				
Caproni				
Provola				
Provola aff.				
Caciocavallo				
Caciocav.aff.				
Burro				
Burrata				
Camilla				

- Controllo temperature celle frigorifere.....
- Controllo temperature celle frigorifere del camion.....
- Controllo dell'integrità del prodotto.....

### Dati alla consegna

<b>Timbro del negozio</b>				
<b>Ora inizio Scarico</b>				
<b>Ora di fine scarico</b>				
<b>Quantità</b>	INT _____ PS _____	INT _____ PS _____	INT _____ PS _____	INT _____ PS _____
<b>T° Camion</b>				
<b>Firma Resp. Neg.</b>				

Data.....

Firma.....

### 8. RILEVAMENTO DATI NEI PUNTI VENDITA AZIENDALI

Nome e cognome del gestore .....

Ubicazione del negozio.....

<b>CONTROLLO TEMPERATURE FRIGORIFERI</b>																	
Mattina						Pomeriggio						Sera					
F1	F2	F3	F4	F5		F1	F2	F3	F4	F5		F1	F2	F3	F4	F5	
ora	°c	°c	°c	°c	°c	ora	°c	°c	°c	°c	°c	ora	°c	°c	°c	°c	
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
<b>REGISTRO MERCE IN ARRIVO: Data _____ Ora _____ : _____ Quantità totale _____</b>																	
<b>Prodotti e quantità (peso o numero)</b>																	
Latte Intero	Latte P.S	Moz. Bufala	Fior di Latte	Ovoline	CilieGINE	Ceresele	Treccione										
Bocconcini	Caciotta C.	Canestrato	Burrata	Burro	Provola aff.	Provola	Treccce										
Silani	Siluri	Nodini	Ricotta mista	Rotelle	Caprini	Caproni	Caciocavallo										
<b>REGISTRO MERCE VENDUTA: Data _____ Ora _____ : _____ Quantità Totale _____</b>																	
Latte Intero	Latte P.S	Moz. Bufala	Fior di Latte	Ovoline	CilieGINE	Ceresele	Treccione										
Bocconcini	Caciotta C.	Canestrato	Burrata	Burro	Provola aff.	Provola	Treccce										
Silani	Siluri	Nodini	Ricotta mista	Rotelle	Caprini	Caproni	Caciocavallo										
<b>REGISTRO MERCE RESTITUITA: Data _____ Ora _____ : _____ Quantità Totale _____</b>																	
Latte Intero	Latte P.S	Moz. Bufala	Fior di Latte	Ovoline	CilieGINE	Ceresele	Treccione										
Bocconcini	Caciotta C.	Canestrato	Burrata	Burro	Provola aff.	Provola	Treccce										
Silani	Siluri	Nodini	Ricotta mista	Rotelle	Caprini	Caproni	Caciocavallo										

Data.....

Firma.....

# ALLEGATO 1

LATTE ALTA QUALITA'

data

17/09

pH : 6,6

Acidità titolabile : 3,5ml

Precipitazione della caseina

	P.N.U. g	P.L.U. g
LATTE	49,84	/
SIERO	34,01	158,57
CAGLIATA	13,18	26,10

TARE		
beuta siero		125,74
filtro		1,00
filtro umido		2,56
filtro secco		1,38
tubo centrifuga		13,29

Proteine con Kjeldahl

campione	g	ml (HCl)	%N	Proteine
latte a	3,02	10,75	0,50	3,18
latte b	2,97	10,70	0,51	3,22
siero a	3,03	2,70	0,12	0,47
siero b	3,04	2,95	0,14	0,52
cagliata a	2,50	28,40	1,59	10,16
cagliata b	2,43	27,65	1,59	10,17

proteine% (media)	dev. St.
latte :	3,20 0,03
siero :	0,50 0,04
cagliata :	10,16 0,01

Proteine con Dumas

campione	g	%N	Proteine
latte a	0,31	0,47	3,00
latte b	0,28	0,54	3,46
latte c	0,21	0,57	3,62
siero a	0,20	0,16	0,63
siero b	0,21	0,17	0,68
siero c	0,32	0,13	0,48
cagliata a	0,16	1,61	10,27
cagliata b	0,18	1,57	10,02
cagliata c	0,19	1,44	9,19

latte :	3,36	0,32
siero :	0,60	0,10
cagliata :	10,14	0,18

Sostanza secca

campione	tara g	P.L.U	P.N.U	P.L.S.	P.N.S.	%SS	MEDIA
latte a	1,28	4,24	2,96	1,64	0,36	0,12	0,12
latte b	1,27	4,25	2,98	1,63	0,36	0,12	
siero a	1,27	4,26	3,00	1,46	0,20	0,07	0,07
siero b	1,28	4,29	3,01	1,47	0,20	0,07	
cagliata a	1,28	4,20	2,92	2,17	0,89	0,30	0,29
cagliata b	1,27	4,00	2,73	2,04	0,77	0,28	

## BILANCIO DI MASSA

	INPUT				OUTPUT			
	Campione	Proteine		SS	Campione	Proteine		SS
	g	K	D		g	K	D	
Latte	49,84	1,60	1,67	6,00				
Siero					34,01	0,17	0,20	2,23
Precipitato					13,18	1,34	1,34	3,86
TOTALE	49,84	1,60	1,67	6,00	47,20	1,51	1,54	6,09
					OUT/IMP	OUT/IMP	OUT/IMP	OUT/IMP
					0,95	0,95	0,92	1,02

Allegato 1. Tabella 1: Risultati delle analisi condotte durante il primo ciclo; esempio di tabulazione giornaliera (latte alta qualità)

**LATTE MICROFILTRATO**

data: 14/11 (gg 0)

pH : 6,851

Acidità titolabile :

**Precipitazione della caseina**

	P.N.U.	P.L.U.
LATTE	49,92	63,34
SIERO	39,19	165,80
CAGLIAT	8,24	21,40

TARE	g
beuta siero	127,90
filtro	1,00
filtro umido	2,55
filtro secco	1,26
tubo centrifuga	13,42

**Proteine con Kjeldahl**

campione	g	ml (HCl)	%N	Proteine	media	devst
latte a	3,06	12,40	0,57	3,63	<b>0,57</b>	<b>0,00</b>
latte b	3,03	12,40	0,57	3,66		
siero a	2,86	3,20	0,10	1,00	<b>0,09</b>	<b>0,01</b>
siero b	4,16	4,10	0,08	0,88		
cagliata	1,09	22,45	2,90	18,49	<b>2,76</b>	<b>0,19</b>
cagliata	1,26	23,65	2,63	16,77		

**Proteine con Dumas**

campione	g	%N	Proteine	metodo	media	devst
latte a	0,29	0,57	3,62	LATTE	<b>0,56</b>	<b>0,02</b>
latte b	0,30	0,54	3,45	LATTE		
latte c	0,28	0,58	3,68	LATTE		
siero a	0,28	0,06	0,66	LATTE	<b>0,08</b>	<b>0,02</b>
siero b	0,29	0,09	0,93	LATTE		
siero c	0,29	0,09	0,92	LATTE		
siero a	0,28	0,05	0,61	SIERO	<b>0,06</b>	<b>0,01</b>
siero b	0,29	0,06	0,71	SIERO		
siero c	0,28	0,06	0,67	SIERO		

**Sostanza secca**

campione	tara g	P.L.U	P.N.U	P.L.S.	P.N.S.	%SS	MEDIA
latte	1,26	4,12	2,86	1,57	0,31	0,11	0,11
latte	1,27	4,12	2,85	1,57	0,30	0,11	
siero	1,26	4,14	2,88	1,46	0,20	0,07	0,07
siero	1,26	4,16	2,90	1,46	0,20	0,07	
cagliata	1,26	3,34	2,07	1,97	0,71	0,34	0,33
cagliata	1,27	2,69	1,43	1,74	0,47	0,33	

**BILANCIO DI MASSA**

	INPUT				OUTPUT			
	Campione	N (g)		SS	Campione	N (g)		SS
	g	K	D		g	K	D	
Latte	49,92	0,29	0,28	5,26				
Siero					39,19	0,04	0,04	2,67
Precipitato					8,24	0,23		2,74
TOTALE	49,92	0,29	0,28	5,26	47,43	0,26	0,04	5,41

OUT/IMP      OUT/IMP      OUT/IMP      OUT/IMP  
 0,95          0,92                                  1,03

Allegato 1. Tabella 2: Risultati delle analisi condotte durante il secondo ciclo; esempio di tabulazione giornaliera (latte microfiltrato)

## BIBLIOGRAFIA

ADDEO F., DERBY G., PAQUOT M., SACHET P., SCHLIMME E., SOUSTRE Y.,(1994):  
*Le proteine del latte e derivati: verità nutrizionali. Tradizione, avvenire e salute*, Masson, Milano.

ALAIS C., (1988):  
*Scienza del Latte*, Tecniche Nuove, Milano.

ALCOLADO A., (1989):  
*Identification & Management of hazards in liquid milk: Haccp, LISA, Indicator organism of failures in the process, indicator organisms of keeping quality*, in “Modern microbiological methods for dairy products”.

ANONIMO, (2007):  
*Intesa Governo-Regioni/Latte crudo, via libera alla vendita diretta in allevamento*. La Professione Veterinaria , anno 4, n. 6, pag. 12.

ANONIMO2, (2007):  
*Latte in tre tipi*. La Professione Veterinaria , anno 4, n. 7, pag. 1.

ASPA, Associazione Scientifica di Produzione Animale, Metodi di analisi del latte delle principali specie di interesse zootecnico (1995):  
*Metodi di analisi del latte delle principali specie di interesse zootecnico*.  
Università degli studi di Perugia.

BALESTRIERI F., (1995):  
*Appunti di Merceologia degli alimenti*, Università degli Studi di Perugia.

BARABAS J., (1995):  
*An alternative method of milk treatment*, in: “World Animal Review”83, 2, pp. 71-73.

BASTASIN P.-CERESA L., (1991):  
*Industrie Agroalimentari*, Franco Lucisano Editore, Napoli.

BEGHELLI. ET AL (1998):  
*Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*, Seconda edizione UTET Torino.

BERTOCCHI L. (2004):  
*L'impatto del regolamento 178/2002 sul mondo della produzione*, in (il mondo del latte).

BICSAK R.C., (1993):  
*Comparison of Kjeldahl method for determination of crude protein in cereal grains and oilseeds with generic combustion method: (collaborative study)*  
J. of AOAC Int, 76, 780-786.

BLANC B., (1982):

*Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale*, in "Lait", 62, 350.

BOLZONI G. MORENO MARTIN A. –BONI. P. –PAGANELLI G., (1994):

*Controllo qualitativo del latte alimentare: risultati del secondo anno di applicazione della legge 169/89 in emilia romagna*, in: "Il latte", 10, 10, pp. 1046-1049.

BONOMI A., (1994):

*Alimentazione delle bovine e caratteristiche qualitative del latte*, in: "La Rivista di Scienza dell'Alimentazione", 23, 1, pp. 87-109.

BOURGEOIS C.M.(1983)

*Microbiologia alimentare*, Tecniche Nuove, Milano

CAPPELLI P.-VANNUCCHI V., (1990):

*Chimica degli Alimenti Conservazione e Trasformazioni*, Zanichelli, Bologna.

CARMINATI D., (1996):

*Freschezza e alta qualità, un binomio vincente*, in: "Latte", agosto, pp.56-59.

CARNOVALE E.-LUCARINI M., (1997):

*Modelli per la valutazione della biodisponibilità dei nutrienti del latte*, in PIZZOFERRATO.

CARNOVALE E.-MARLETTA L., (1997):

*Tabelle di Composizione degli Alimenti*, INN, Ed. Edra Milano.

CARUNCHIO F., GIRELLI A.M., (2001):

*A new rapid method for measurement of nitrogen*,

Annali di Chimica vol.91, (2001), Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza" Roma.

CASTOLDI F., (1997):

*Il metodo HACCP nei documenti WHO e nella Direttiva 93/43/CEE, due modelli simili ma non sovrapponibili*, in: "Industria Alimentari", XXXVI, dicembre, 1478-1482.

CHIACCHIERINI E., D'ASCENZO F., RADICCHI M., TANNINI C., VINCI G., (1996)::

*Different milk heating treatments: chromatographic study of whey soluble proteins*, Proceedings of symposium Chemical Reaction in food III, Prague-September.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, (1994):

*Report of the first session of the Codex Committee on milk and milk Products*, Food and Agriculture Organization.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, (1996):

*HACCP system and guidelines for its application*, in "Report of the 29th session of the Codex Committee on food hygiene", Food and Agriculture Organization.

COLAVITA G.-MAZZEO A.-IANNETTA M., (1992):

*Qualità del latte alimentare*, in "Obiettivi e documenti veterinari", n.12.

CORRADINI C. –BOTTAZZI V. –BONOMI E., (1975):  
*Il latte sterilizzato UHT*, Edagricole, Bologna.

CORRADINI C., (1995):  
*Chimica e tecnologia del latte*, Tecniche Nuove, Milano.

CORRADINI C., (1998):  
*Proprietà funzionali delle sieroproteine in preparazioni alimentari*, Scienza e tecnica Lattiero-casearia, vol.49, No 4, pp 204-213.

CORRADINI C., PITTA P., SENSODINI A., INNOCENTE N., (1993):  
*Improvement of emulsions characteristics in low fat butter*, in “Protein & Fat Globule modifications” IDF Special ISSUE n.9303, pp. 403.

CORRADINI D., CANNARSA G., (1996):  
Capillary Electrophoresis of Proteins in Bare Fused-Silica Capillaries,  
LC-GC Int.126.

CORRERA C., (1998):  
*Criteri microbiologici relativi ai prodotti a base di latte e al “latte alimentare”: disciplina nel D.P.R. N. 54/1997 e rapporti con la legge N. 283/1962*, in: “Latte”, 23, (1).

CORRERA C., (1998):  
*Latte e prodotti a base di latte: igiene e sicurezza dalle direttive CEE al D.P.R. N. 54/1997*, Tecniche Nuove, Milano.

CORRERA C. (2004):  
*Latte conservato per l'alimentazione umana, la normativa cambia*, in (il latte).

COSCIA G., (2002):  
*Il regolamento CE 178/2002: le novità per la sicurezza alimentare. Intervento alla tavola rotonda “sicurezza alimentare: novità attese e riflessi applicativi”*, Alessandria, Camera di Commercio, 15 Novembre 2002.

COSTARDI G.F.-ROCCA G., (1987):  
*Il controllo igienico-sanitario del Latte e derivati, Tecnica e legislazione*, Edagricole, (Bo).

DE NONI I., (2002):  
*Technological and analytical aspects related to shelf life of fresh pasteurized milk*  
7° Workshop in food science and technology (Porto conte ricerche, Alghero, 19-21 sett.

DONNELLY W. J., O'CALLAGHAN D.M., MEHRA R.M. , (1993):  
*Modification of milk protein functionality by new technologies for separation and hydrolysis*.  
In “Protein & Fat Globule modifications” IDF Special ISSUE n.9303, pp. 18.

DZUREC D.J., ZALL R.R., (1995):  
*Method for predictiong the keeping quality of P. Milk*, Dairy food may 1995

- D'EGIDIO M. G., CECCHINI C., NOVEMBRE G., (1999):  
*Determinazione delle proteine nei cereali: metodi Dumas e Kjeldahl a confronto*,  
Tecnica Molitoria, Novembre.
- DUMAS J. B. A., (1831):  
Am. Chim. Phys. 47, 198.  
Manuale dell'analizzatore FP-528, Leco.
- ELLEN G., MAHULETTE G.G.,(1997):  
*Dumas equals Kjeldahl in the nitrogen determination in dairy products*,  
NIZO document and report by ELLEN G. in group E 302, Lisbon.
- FOURNIER D., SHWITZGUEBEL JP., PERINGER P., (1993):  
*Effect of different hetogeneous inocula in acidogenic fermentation of whey permeate*.  
Biotechnol. Lett., 15 627-632.
- ENDRIGHI E., (1994):  
*Il Sistema Qualità aziendale nell'agroalimentare: un imperativo per i manager*, in "La  
Rivista del Dottore in Scienze Agrarie e Forestali", n. 10-11, pp.11-17.
- FANTINO P., (1991):  
*Nuovi aspetti legislativi inerenti il latte crudo e trattato termicamente*, in SINU (1991).
- FANTOZZI P.-DE STEFANO A., (1994):  
*Dispense del corso di Tecnologie Alimentari*, Università degli Studi, Perugia.
- FAO/WHO, (1990):  
*Expert Consultion on Protein Quality Evalutation*, Food and Agriculture Organization.
- FELLER E., (1987):  
*Controllo di qualità*, in MULTON (1987).
- FENNEMA O.R., (1985):  
*Food Chemistry*, Marcel Dekker inc., New York and Basel.
- FIDANZA F., (1996):  
*Alimenti: caratteristiche nutrizionali, analisi, controllo*, Sezione terza di: Alimentazione e  
nutrizione umana, Idelson Napoli.
- FIDANZA F.-LIGUORI G., (1995):  
*Nutrizione umana*, Idelson Napoli.
- FLAIR (1995):  
*Guida all'uso dell'HACCP*, Chirotti editori.
- FORTE G. (2004):  
*Rintracciabilità dei prodotti. Che cosa cambia con il nuovo anno*, in (alimenti e bevande).

- FRONTONI S., (1998):  
*Mille confezioni per il Latte*, in: "Latte", 23, (4).
- GANDOLFI I, et all.,(2006):  
*Per affinare le tecnologie e fornire prodotti migliori. Indici di trattamento termico del latte.*
- GARBATI M., (1990):  
*Latte alimentare di qualità: alcuni aspetti analitici e di produzione*, in "Industrie Alimentari", XXIX novembre.
- GARBATI M., (1993):  
*Il latte di alta qualità. Aspetti normativi e potenzialità produttiva*, in "Industrie Alimentari", XXXII aprile.
- GARBATI M., (1997):  
*Latte alimentare di qualità: requisiti, normativa, strategie aziendali*, in "Latte", 22(5).
- GORDON J.F., (1995):  
*Opting for a longer life*, Liquid foods international may 95
- KALAB M. –PHIPPS-TODD B.E. –ALLAN-WOJTAS P., (1982):  
*Milk gel structure. XIII Rotary shadoging of casein micelles for electron microscopy*, in: "Milchwissen-schaft", 37,513.
- KING BRINK, SEBRANEK J.G., (1993):  
*Combination method for determination of crude protein in meat and meat products*, Journal of Association of Analytical Chemists Internetal 76, 787-793.
- KJELDHAL J., (1883):  
*Anal. Chem.* 22, 366-382 .
- KOBURGER J.K., MARTH E.H. ,(1995):  
*Extending the keeping quality of fluid milk to 21 days*, Dairy, food and environmental sanitation (january 95)
- KROTZ J.B.A., RAGAGLIA L., ANDREOLINI F., (1995):  
*Determinazione del contenuto proteico in alimenti di origine vegetale ed animale mediante il metodo della combustione come alternativa al metodo Kjeldahl*, Atti del 2° congresso Nazionale di chimica degli alimenti, Giardini Naxos, Maggio.
- LANCIA B. –TABACCHINI P.- -BOCCACCINI P. –ROCCUZZO S., (1993):  
*Il ruolo del latte nell'alimentazione dell'età evolutiva*, in: "La rivista di Scienza dell'Alimentazione", 22, (1).
- LARSON B.L., (1979):  
*Biosynthesis and secretion of milk proteins: a review*, in "J. Dairy Res.", 46,161.

- LEALI L., (1996):  
*I requisiti del latte*, in *Tecnologie Alimentari*, 5, pp. 60-68.
- LEALI L., (1997):  
*D.P.R. n. 54 del 14.01.1997 Attuazione delle direttive comunitarie sul latte e i prodotti caseari*, in: "L'industria del latte", XXXIII, n. 1-2, Fasc. 2.
- LORIENT D., CLOSS B., COURTHANDON J.L., (1991):  
*Connoissances nouvelles sur les propriétés fonctionelles des protéines du lait et des dérivés*, Lait, vol.71, pp. 141.
- LUSETTI L., (1986):  
*Principi di Scienza dell'Alimentazione*, Calderini, Bologna.
- MACDONALD A., (1988):  
*Cow's milk allergy and intolerance*, Journal of the Society of Dairy Technology, Vol.41, No.3.
- MAUBOIS J.L., (1998):  
*Depurazione batterica del latte per microfiltrazione a membrana*, Latte 23, (2), 82-86 '98
- MC PHERSON A.V. –KITCHEN B.J., (1983):  
*Review of the progress of Dairy Science. The bovine milk fat globule membrane – its formation, composition, structure and behaviour in milk and dairy products*, in: "J. Dairy Res.", 50, 107.
- McAULEY G., McLEAN B., (1998):  
*Evaluation of the nitrogen method*, Campden & Chorleywood Food Research Association, report No. 57.
- MONTUORO G.L. & AL., (2003):  
*Analisi dei possibili interventi lungo la filiera del latte fresco pastorizzato finalizzati a prolungarne la shelf life*. VI Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti.
- MONTUORO G.L., (2005):  
*Traceability studies in fresh milk chain*. X Workshop on the Developments in the Italian PhD Research in Food Science and Technology, Foggia, 7-9 settembre.
- MONTUORO G.L., (2006):  
*Traceability applications in fresh milk chain*. XI Workshop on the Developments in the Italian PhD Research in Food Science and Technology, Teramo, 27-29 settembre.
- MULDER H.- WALASTRA G.P., (1974):  
*The milk fat globule*, Pudoc, Wageningen.
- MULTON J.D., (1987):  
*La qualità dei prodotti alimentari*, Tecniche nuove, Milano.

- NICOLETTI G.M. –COLUCCI L., (1997):  
*Qualità e legislazione del latte alimentare in Italia*, in: “Industria Alimentari”, XXXVI, marzo, pp. 336-344.
- NICOLI M. C., ANESE M., MASTROCOLA D., (1994):  
*Utilizzo di polvere di siero nella produzione di maionese “light”*,  
Moderne strategie Lattiero-casearie, TECNICHE NUOVE, pp. 164-170.
- OCAMPO CERVANTES ET. AL. , (2001):  
*La depurazione del siero di latte : l'utilizzo di una coltura mista di lieviti con un sistema per lotto alimentato e alimentato ripetuto*, Latte, vol.24, No 6.
- OTTAVIANI D., BACCHIOCCHI I., ROCHEGIANI E.,(1994):  
*Germi psicrofili e termofili del latte*, Industrie alimentari XXXIII (94) Ottobre
- PAGLIARONE C.N. (2004):  
*La sicurezza alimentare il regolamento CE 178/2002*, S.I.A.N., Taranto, (in biologi italiani).
- PASQUIN P., LEBUF Y., RICHARD J.P., KALAB M., (1993):  
*Microparticulation of milk proteins by high pressure to produce a fat substitute*,  
In “Protein & Fat Globule modifications” IDF Special ISSUE n.9303, pp. 389.
- PAUSELLI M. (2003):  
*Dispense di produzioni animali*. Università di Perugia
- PERI C. –ZANONI B.- PAGLIARINI E.- GIOVANELLI G., (1997):  
*Linee Guida per la Messa a Punto dei Sistemi Aziendali di Autocontrollo dell'Igiene il Metodo Peri-*, Centro Studi sull'Alimentazione Gino Alfonso Sada, Milano.
- PEZZANI G., BELLATI M.,VOLTA R., (1994)::  
*Metodi per la determinazione dell'azoto totale nella carne e nei prodotti a base di carne*,  
Industria Conserve, 69.
- PINCI L., (1997):  
*Latte e derivati. Abitudini di consumo in sogetti in età prescolare e scolare di Messina e provincia*, in PIZZOFERRATO (1997).
- PITTA P., INNOCENTE N., CORRADINI C., (1993):  
*Emulsions characteristics in low fat butter*,  
Europen Dairy Magazine, vol.2, pp. 24.
- PIZZOFERRATO L., (1997):  
*Latte e derivati tra tecnologia e nutrizione*, Roma, Istituto Nazionale della Nutrizione.
- POLITI I.,  
Chimica del latte e dei latticini, Centro sperimentale del latte- Milano.

QUATTRUCCI E., (1997):

*Trattamenti termici industriali e caratteristiche microbiologiche, fisiche, chimiche, nutrizionali ed organolettiche del latte: i risultati di un programma pluriennale*, in PIZZOFERRATO (1997).

QUERRO O., (1994):

*Simplese: un'alternativa naturale alle sostanze grasse negli alimenti*, Scienza e Tecnica Lattiero-casearie, vol.45, pp. 351.

RAIMONDI A., (1990):

*Nutrizione: stato dell'arte ed evoluzione negli anni '90*, Conv. 3-6/10/1990, Bolzano.

RENNER E., RENZ-SCHAUEN, (1992):

*Nährwerttabellen für Milch und Milchprodukte*, Verlag B. Renner, Giessen.

RESMINI P., TRIPICIANO C., RAMPILLI M., LODI R., (1985):

*Alcuni aspetti del controllo di qualità del latte al consumo*: "Riv. Soc. It. Sci. Alim.", 14, 187.

RIGHINI S., (1995):

*La qualità comincia alla stalla*, Il latte, aprile '95

RIPABELLI G. (1997):

*La qualità igienica dei prodotti alimentari*, in "Industria e grande distribuzione", luglio, EDICOM.

RIVA & SARDI, (1998):

*La vita commerciale dei prodotti freschi conservazione domestica*, Latte 23, (8), 60-69 '98

RIZZATTI L., E. (2001):

*Tutela igienico sanitaria degli alimenti e bevande e dei consumatori*, ventesima edizione, il Sole 24 ore.

ROSSI G., (1993):

*Manuale di Tecnologia Casearia*, Edagricole, Bologna.

ROSSI G.A., (1995):

*Il sistema di qualità aziendale*, in "dimensione Pulito", n.1.

ROVERE E., (1992):

*Soluzioni per il controllo della qualità igienica del latte crudo*, in "Il latte", 4, pp. 349-351.

SACCHI P.-CAUVIN E.-TURI R.M., (1993):

*Approvvigionamento del latte pastorizzato in Piemonte indagine su alcuni parametri di qualità*, in "Industrie Alimentari", XXXII febbraio.

SALVADORI DEL PRADO O., (1997):

*La Direttiva 92/46 è finalmente legge dello Stato italiano*, in: "Latte", 22, (5).

- SALVADORI DEL PRADO., (1997):  
*Trattato di tecnologia casearia*, Edagricole.
- SAVINI E., (1946):  
*Analisi del latte e dei latticini*. Ed Hoepli, Milano.
- SCHLIMME E., (1994):  
*Qualità nutrizionali delle proteine del latte*, in ADDEO (1994).
- SCHMIDT D.G., (1980):  
*Colloidal aspects of casein*, in: "Neth. Milk. Dairy J.", 34,42.
- SCHRODER MJA, BLAND M.A. (1983):  
*Contaminazione post pastorizzazione e S.L. di latte past. HTST confezionate in liquid-pak convenzionale o model 820A cartonng machine*.  
J. of the society of dairy technology, Vol. 36 n° 2 Aprile '83
- SCIANCELEPORE, CAPILONGO, SORRENTINO, CINQUANTA, (1991):  
*Alcuni aspetti della produzione di latte Past. al consumo*, Il latte Febbraio '91
- SCIANCELEPORE V., (1998):  
*Industrie Agrarie olearia, enologica, lattiero-casearia*, UTET.
- SECCHI G., (1979):  
*Il latte-il formaggio-il burro-le uova*, in SECCHI (1979).
- SECCHI G., (1979):  
*I nostri alimenti*, Ulrico Hoepli.
- SENSIDONI A., PITTIA P., BORTOLUSSI G., CORRADINI C., (1993):  
*Studio della stabilità di un sistema disperso innovativo a ridotto titolo di grasso: il mascarpone "light"*. Atti Workshop "Sistemi dispersi", Bologna, pp. 221.
- SHIMIZU M., YAMAUCHI K., SAITO M., (1989):  
*Emulsifying propierties of the proteose-peptone fraction obtained from bovin milk*,  
Milchwissenschaft, vol. 44, pp. 497.
- SIMONNE A.H., et all., (1997):  
*Could the Dumas method replace the Kjeldahl digestion for nitrogen and crude protein determinations in foods?*, J. Sci. Food Agric. 73, 39-45.
- SINU, (1991):  
*Il latte- Aspetti nutrizionali, tecnologici, legislativi*, Società Italiana di Nutrizione Umana Sezione Piemonte.
- SITO INTERNET, (2005):  
"http://users.uniud.it/fazzini/AnFis/lattazione/sintesi\_del\_latte.htm".

SITO INTERNET, (2004):

“LAURA PIZZOFERRATO:<http://inn.ingrm.it/Documentazione/latte.pdf>”.

SITO INTERNET, (2005):

[www.coop.lattecisternino.it](http://www.coop.lattecisternino.it).

STECCHINI, SARAIS, MILANI, (1993):

*Fondamenti dei modelli di sviluppo microbico*, Industrie alimentari XXXII Febbraio '93

STEPANIAK L. , (1991):

*Factors affecting q. and possibilities of predicting SL of past: and UHT temperature heated milks*, Ital. J. Food sci. n° 1 '91

SUCCI. G. (2005):

“Zootecnia speciale”. *EDAGRICOLE, BOLOGNA*.

TRESOLDI A., (1996):

*Analisi dei rischi attraverso l'applicazione del sistema HACCP nella filiera lattiero-casearia*, in “Il mondo del latte”.

TURI R.M., (1991):

*Modificazioni della composizione del latte a seguito dei trattamenti termici*, in SINU (1991).

VANOSSI L., (1979):

*Il valore alimentare del latte e norme igieniche*, in: “Industrie alimentari”, Marzo.

VINCI G., TANTINI C., VEZZIO D., ROSSI M., D'ASCENZO F.:

*Determinazione di proteine e grassi in campioni di carne e prodotti a base di carne, uso di metodi analitici rapidi e precisi*, Industrie Alimentari XXXVIII Aprile.

WILES P.G., GRAY I.K., (1999):

*Routine Analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas Methods: Review and Interlaboratory Study Using Dairy Products*.

YOUNG V.R. –PELLET P.L., (1988):

*How to evaluate dietary protein*, in: “Milk proteins-Nutritional, Clinical, Functional, Technological Aspects”, (Barth C.A., Scrimme E., eds) Steinkopff, Darmstadt and Springer, New York.

ZAFFINO I., (1992):

*Il ruolo del latte nell'alimentazione dell'uomo qualità, denominazione, legislazione*, in: “L'industria del latte”, XXVIII, n.1, Fasc. 5.

ZAGHI S., (1996):

*Direttiva CEE 92/46 prossima al recepimento*, in “L'informatore agrario”, 36, 19 settembre 1996.

AOAC Official Method of Analysis, (1984), 7.016-7.017-7.019-7.020, pp153, 154.

A.O.A.C. (1990) – Official methods of analysis of association of Official Analytical Chemists 925.21.

A.O.A.C. (1990) – Official methods of analysis of association of Official Analytical Chemists 925.23.

Bulletin of the International Dairy Federation 185, (2000)

Bulletin of the International Dairy Federation 200, (1986)

Bulletin of the International Dairy Federation 238, (1989)

Bulletin of the International Dairy Federation 281,(1993)

Bulletin of the International Dairy Federation 264,(1991)

Reggio Decreto del 9 maggio 1929 n°994, pubblicato dalla G.U. del 24 giugno 1929, n°146

Legge 30 aprile 1962 n°283, pubblicata dalla G.U. del 4 giugno 1962, n°139.

Legge 3 maggio 1989 n°169, pubblicata dalla G.U. dell'11 maggio 1989, n°108.

D.Lgs. 27 gennaio 1992 n°109, pubblicato dalla G.U. del 17 febbraio 1992, n°39 S. Ordinario.

D.Lgs 27 gennaio 1992 n°119, pubbl. dalla G.U del 18 febbraio 1992, n°40 S. Ordinario.

Legge del 19 febbraio 1992 n°142, pubbl. dalla G.U. del 20 febbraio 1992, n°42 S..Ordinario.

DIRETTIVA CE 93/43, pubblicata della G.U. CE del 19 luglio 1993 n°L175

D.P.R. del 15 gennaio 1997 n°54, pubblicato dalla G.U. del 12 marzo 1997, n°59 S.Ordinario.

D.Lgs. 26 maggio 1997 n°155, pubblicato dalla G.U. del 13 giugno 1997, n°136 S. Ordinario.

Regolamento (CE) del 18 dicembre 1997 n°2597, pubblicato dalla G.U (CE) del 23 dicembre 1997, L 351.

D.Lgs del 4 agosto 1999, n°336, pubblicato dalla G U del 30 settembre 1999, n°230.

D.M. 27 febbraio1996 n°209, pubblicato dalla G.U. del 24 aprile 1996, n°96 Supp. Ordinario.

REGOLAMENTO CE del 28 gennaio 2002 n°178, pubblicato dalla gazzetta ufficiale del 1 febbraio 2002, n°L31.

REGOLAMENTO CE del 29 aprile 2004 n°882, pubblicato dalla G.U. del 30 aprile 2004, n°L165, con rettifica del 29 maggio 2004, n°L191.

REGOLAMENTI CE DEL 29 aprile 2004 n°852; n°853; n°854, pubblicati dalla G.U. del 30 aprile 2004, n°L139, con rettifica del 25 giugno 2004, n°L 226.

FEDERALIMENTARE: Linee guida per la rintracciabilità dei prodotti alimentari.

Libro bianco sulla sicurezza alimentare.

DECRETO MAP 27 maggio 2004

Legge del 3 agosto del 2004, n°204, pubblicata dalla G.U. il 10 agosto 2004, n°186.

DECRETO MiPAF 14 gennaio 2005

D.Lgs 5 aprile 2006, n° 190

CONFERENZA STATO REGIONI, 25 gennaio 2007

Method of Analysis and sampling (1994) Codex Alimentarius, vol 13, Joint FAO/WHO Food standards Programme, Codex Alimentarius commission, Food and Agriculture Organization.

NORMA INTERNAZIONALE FIL-IDF (1982) – Federazione Internazionale di Lattoria, 21 A, 108.

NORMA INTERNAZIONALE FIL-IDF (1985) – Federazione Internazionale di Lattoria, 50B.

NORMA INTERNAZIONALE FIL-IDF (1993) – Federazione Internazionale di Lattoria, 20 B.