

Literatura

1. Baković, D. (1957.): Prinos poznavanju osobina i proizvodnje ovčjih sireva Dalmacije (disertacija), Zagreb;
2. Jović, R. (1968): Mlekcarstvo 8, 182—188;
3. Miletić, S. (1967): Poljoprivredna znanstvena smotra 16/2, 49—54.
4. Pejić, O. (1956.): Mlekcarstvo II deo. Naučna knjiga, Beograd;
5. Pejić, O., Đorđević, J. (1963): Mlekarski praktikum. Naučna knjiga, Beograd;
6. Vajić B. i saradnici (1954.): Priručnik laboratorijskih metoda za ispitivanje životnih namirnica (Medicinska knjiga, Beograd—Zagreb);
7. Vaisseyre, R. (1957.): Techniques laitières modernes, La maison rustique, Paris;
8. Zdanovski, N. (1947.): Ovčje mljekarstvo, Poljopr. nakladni zavod, Zagreb.

STANDARDIZACIJA KONTROLNIH LABORATORIJSKIH METODA — ODREĐIVANJE KISELOSTI MLIJEKA —

Tatjana SLANOVEC,
Institut za mljekarstvo Biotehniške, fakultete, Ljubljana

UVOD

Za određivanje svježine a time i kvalitete i sposobnosti određenog mlijeka za preradu, služi i podatak o njegovoj kiselosti. Obuhvaćen je propisima i značajan kako za proizvođače tako i za mljekarsku industriju. Poznati su različiti pristupi njezinom određivanju, npr. na bazi određivanja slobodnih vodikovih iona (pH) ili s pomoću različitih titracionih postupaka s indikatorom fenolftaleinom, i NaOH. Direktno određivanje mlječne kiseline izvodi se rijetko, jer postojeće metode nisu najpogodnije za rutinsko određivanje, iako se, kako navodi Steffen (1971), na problemu intenzivno radi.

Željeli bismo skrenuti pažnju samo na neke materijale, objavljene u vezi s određivanjem kiselosti mlijeka u proteklim godinama u »Mljekarstvu« (5/66, 8/67, 6/68), koji po našem mišljenju pružaju jasnu sliku analitičke prakse u našoj zemlji. Ne upuštajući se ponovno u detaljno dokazivanje neophodnosti standardizacije postupka za određivanje kiselosti mlijeka, dajemo u nastavku rezultate našeg rada¹, kao doprinos rješavanju ove aktuelne problematike.

PREGLED LITERATURE

Prema Hofferu i Niederheimu (1967) je za kemijska i bakteriološka zbivanja značajna koncentracija aktivnih vodikovih iona u mlijeku, tj. njegova aktuelna kiselost, koja obuhvaća slobodne kiseline (citronska, fosforna, ugljična, mlječna itd.) i njihove soli, kao i prisutne COOH i NH₃ grupe i koju određujemo mjerenjem pH vrijednosti. Unatoč tome, što se ovaj postupak i u praksi sve više afirmira, primjenjuje se i titraciono određivanje kiselosti. Jenes, Patton i dr. definiraju titracionu kiselost ovako: svježe mlijeko, zahvaljujući CO₂, proteinima, fosfatima, citratima i dr., djeluje kao pufer, čemu pridonose i laktati i ostali organski anioni proizvedeni djelovanjem mikroorga-

¹ Tema »Standardizacija u cilju dobivanja jedinstvenih kontrolnih metoda za ispitivanje mlijeka i mliječnih proizvoda; finansijer Jugoslavenski Poljoprivredno-šumarski centar 1971; Kervina, Sotlar, Slanovec, Arsov.

nizama. Titracijom postupkom obuhvaćena je potencijalna kiselost (mjerenje puferne sposobnosti mlijeka) kao i aktualna kiselost mlijeka. Nedostatak titracijskih metoda je prema Mengelberu (1969) u tome što obično nije poznata količina suhe tvari (bjelančevine, soli) u uzorku, kao i činjenica, da organske kiseline ne disociiraju u potpunosti. Time ostaje otvoreno pitanje koliko se vodikovih iona u uzorku nalazi i koliko je od njih aktivno. Unatoč nedostacima titracijske metode određivanja kiselosti mlijeka uključene su u mnoge nacionalne standarde.

PROBLEM

Kod određivanja kiselinskog stepena mlijeka titracijom, primjenjuje se postupak neutralizacije s NaOH, uz dodatak indikatora fenolftaleina. U zavisnosti od upotrebljenog normaliteta NaOH razrađene su različite metode. Kako navode Jennes i Patton (1967), danas se upotrebljavaju slijedeće: Soxhlet-Henkel, Thörner, Dornic, holandska i engleska standardna metoda, i u Americi SAD-MIF i SAD AOAC metoda. Kod pojedinih postupaka postoje modifikacije što proširuje izbor, povlači za sobom odstupanja u rezultatima i time otežava njihovu komparaciju, što u inostranstvu izbjegavaju primjenom obaveznih standarda.

Osnovna pitanja u vezi s titracijskim postupcima (normalitet NaOH, količina i koncentracija fenolftaleina, utjecaj pribora i rada na tačnost rezultata) su rasčišćena. U sklopu rada na navedenoj temi, u kojoj je bilo obuhvaćeno i određivanje masti i bjelančevina mlijeka te reduktazna proba, željelo se kritički ispitati neke od titracijskih postupaka, kojima se služe naši laboratoriji. Rad bi trebao dati odgovor koji postupak dolazi u obzir za standardizaciju. Ispitalo se u ovim pravicima:

- 1) utvrđivanje razlika u rezultatima četiri modificirana postupka po Soxhlet-Henklu u odnosu na referencijsku metodu;
- 2) utvrđivanje točnosti po pojedinim postupcima (veličina subjektivnih greški);
- 3) utvrđivanje odstupanja kod određivanja kiselosti mlijeka prema Thörneru u odnosu na referencijsku metodu.

MATERIJAL I METODIKA RADA

Uzorke sirovog mlijeka uzimalo se po propisima internacionalnog standarda FIL/IDF/IMV 2 — 1958 i odmah su podvrgnuti analizi prema propisima pojedinih metoda određivanja. Ukupno je analizirano 98 uzoraka mlijeka. Kiselost se određivala po svim ispitivanim modifikacijama paralelno u istom uzorku mlijeka. Ukupno je izrađeno 1176 titracija. Za svaku titraciju rađena su paralelna određivanja, obračavajući pažnju na to, da od prve do posljednje titracije jednog uzorka (5 titracija), nije prošlo više od 15 minuta. Kod svih titracija upotrebljavao se isti pribor: laboratorijske čaše iste kvalitete i boje stakla te iste veličine, odmjerne pipete, birete sa skalom od 0,1 ml (Soxhlet-Henkel) odnosno mikrobireta (Thörner). Titracije vršila je uvijek ista osoba², kod konstantne difuzne svjetlosti (Fucoma pribor, osvjetljenje s donje strane).

Kao referencijska metoda odabrana je metoda Soxhlet-Henkel (I): Pod stepenom kiselosti podrazumijeva se broj mililitara 0,25 n NaOH, koji su po-

² Tehn. suradnik Marjan Pangerc

trebni, da se postigne kod titracije 100 ml mlijeka, uz indikator fenolftalein, standardna boja. Jedinica kiselinskog stepena prema Soxhlet-Henkelu (1 ml 0,25 n NaOH) označuje se kao SH.

Testirani su ovi postupci:

Soxhlet-Henkel

(II): 50 ml mlijeka, 0,25 n NaOH, fenolftalein — standardna boja otopina $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ — SH; Mengerbier (1969), Methodenkommision ME Nr. 6 (1963)

(III): 25 ml mlijeka, 0,25 n NaOH, fenolftalein, — SH Roeder (1952)

Morres

(IV): 40 ml mlijeka, 0,10 n NaOH, fenolftalein — SH Pejić (1957)

(V): 20 ml mlijeka, 0,10 n NaOH, fenolftalein — SH Pejić (1957)

Thörner

(VI): 10 ml mlijeka, 20 ml destilirane vode, 0,10 n NaOH, fenolftalein — Th Pejić (1957)

Statistička obrada rezultata obuhvatila je srednju vrijednost (\bar{X} = prosjek dvaju paralelnih određivanja), testiranje opravdanosti razlika srednjih vrijednosti određenih po pojedinim postupcima ($d\bar{X}$, stepen vjerojatnosti $P < 0,01$ i $P < 0,05$) i izračunavanje stepena točnosti metode (s).

REZULTATI I DISKUSIJA

1) Utvrđivanje razlika u rezultatima četiriju modificiranih postupaka Soxhlet-Henkel u odnosu na referencijsku metodu

Analitičke rezultate, dobivene po pojedinim postupcima (II—IV), uspoređivali smo s rezultatima referencijske metode (I). Tablica 1 prikazuje prosječne rezultate pojedinih titracionih određivanja kiselosti, razlike srednjih vrijednosti u odnosu na referencijsku metodu i njihovu pouzdanost, te u % izraženu točnost pojedinih modifikacija.

Tablica 1

Postupak	n	Kiselost SH \bar{X}	Diference u odnosu na (I) $d\bar{X}$	Točnost % u odnosu na (I)
I	98	7,29		100,00
II	98	7,24	— 0,05	99,28
III	98	7,12	— 0,17**	97,64
IV	98	7,05	— 0,24**	96,57
V	98	7,00	— 0,29**	95,88

** signifikantno (vjerojatnost 99%)

Iz iznijetih podataka je uočljivo, da su kod svih modifikacija u odnosu na postupak (I), utvrđene niže apsolutne vrijednosti. Rezultati nadalje pokazuju, da je u dobroj suglasnosti s referencijskom metodom samo modifikacija (II), dok kod ostalih odstupanja nisu slučajna i kao takva smanjuju točnost i pouzdanost pomenutih postupaka (III), (IV) i (V).

Prema iznijetom dolaze za titraciono određivanje kiselosti mlijeka u obzir referencijska metoda (I) prema Soxhlet-Henkelu, odnosno modifikacija pomenutog postupka (II), s titracijom 100, odnosno 50 ml mlijeka, uz obavezno ispu-

njavanje svih uvjeta u pogledu pribora, kemikalija i postupka, koje one propisuju.

2) Utvrđivanje točnosti pojedinih postupaka

Veličina subjektivnih grešaka pojedinih postupaka utvrđivana je iz rezultata dobivenih kod paralelnih titracija po pojedinim postupcima. Kao prvo, raspoređena su nađena odstupanja u SH u sedam grupa od 0,00 do 0,40 SH. Za svaki postupak izračunat je % odstupanja, koja pripadaju određenoj veličini odstupanja i kao drugo, izračunati su stepeni točnosti (s) po pojedinim modifikacijama. Rezultati prikazani su u tablici 2.

Prema njemačkom standardu ME No 6, dozvoljena je kod izvođenja paralelnog određivanja razlika, do maksimalno 0,2 SH.

Tabelica 2

Odstupanja u % po grupama	P o s t u p a k				
	I	II	III	IV	V
0,00 SH	29,17	22,45	20,58	28,57	20,41
0,05 SH	31,25	45,94	14,28	33,68	0,00
0,10 SH	39,58	21,41	16,33	29,59	54,08
0,15 SH	0,00	0,00	7,84	4,08	0,00
0,20 SH	0,00	10,20	26,69	2,04	21,43
0,30 SH	0,00	0,00	4,08	2,04	4,08
0,40 SH	0,00	0,00	10,20	0,00	0,00
Stepen točnosti (s)	± 0,05	± 0,06	± 0,13	± 0,06	± 0,10

Kako je uočljivo iz tablice 2, u predloženom slučaju kretala su se odstupanja od 0,00 do 0,40 SH. Uočljiva je i činjenica, da su kod referencijske metode (I) i postupka (II) odstupanja u dozvoljenim granicama i to kod prve od 0,00 do najviše 0,10 SH, dok kod druge od 0,00 do najviše 0,20 SH. Kod ostalih postupaka (III), (IV) i (V) granica 0,20 SH bila je i pređena. Ovi procentualni rezultati prikazuju točnost metode. Kod paralelnih titracija prema referencijskoj metodi bila je postignuta maksimalna točnost, 100% uzoraka odstupalo je do najviše 0,10 SH, dok je kod postupka (II) bilo 89,80% uzoraka s razlikom u granicama od 0,00 do 0,10 SH i 10,20% s razlikom od 0,20 SH, dakle još u dozvoljenim granicama. Kod modifikacije (III) utvrđen je slijedeći odnos: 85,72% uzoraka imalo je kod paralelnih titracija odstupanja u granicama od 0,00 do 0,20 SH i 14,28% u granicama od 0,30 do 0,40 SH. Kod postupka (IV) otpalo je 97,96% uzoraka na dozvoljena odstupanja, dok kod modifikacije (V) 95,92%.

Iz dobivenih podataka može se zaključiti, da je omogućen točniji rad kod upotrebe većih količina mlijeka. U istom smislu favoriziraju kod izbora titracionog postupka, referencijsku metodu (I) i modifikaciju (II) i nađeni stepeni točnosti, koji se kreću od $s = \pm 0,05$ do $s = \pm 0,06$ kod postupaka (I), (II) i (IV), dok su slabiji kod modifikacija (III) i (V), s vrijednostima $s = \pm 0,13$, odnosno $s = \pm 0,10$.

3) Utvrđivanje odstupanja kod određivanja kiselosti mlijeka po metodi Thörner (VI)

S obzirom na drugačiji normalitet NaOH, kod ove metode upotrebljava se 0,1 n NaOH, dok kod referencijske metode (I) 0,25 n NaOH, prirodno je, da se

dobiveni rezultati kao takvi ne mogu direktno uspoređivati. Pored navedenog se kod Thörnerove metode uzorak mlijeka i razređuje destiliranom vodom.

Određivanje kiselosti po postupku (VI) kontrolirali smo na taj način, što smo uzorcima mlijeka s poznatim SH, utvrđenim prema referencijskoj metodi (I), odredili kiselost i Thörnerovim postupkom. U tablici 3 prikazani su rezultati, koji pokazuju, da se za istu vrijednost rezultata referencijske metode (SH I) dobiva različite vrijednosti po Thörneru (VI) i da iznose razlike između minimalne i maksimalne dobivene vrijednosti od 0,50 do 1,00 Th. Istovremeno se pojedini rezultati i prekrivaju: dok je po referencijskoj metodi (I) npr. u određenom uzorku mlijeka kiselost 7,20 SH i u drugom 7,40 SH, pokazala je titracija po Thörnerovoj metodi (VI) u oba slučaja 17,50 Th.

Ne treba zaboraviti na još jednu činjenicu. S obzirom na razliku u normalitetu upotrebljenog NaOH, postoji mogućnost preračunavanja rezultata jednog postupka u drugi (Schulz 1965). Netočnost ovog postupka prikazana je u istoj tablici (3). Preračunate vrijednosti (Th/2,5 = SH) prikazuju niži kiselinski stepen od stvarnog, određenog postupkom (I). »t«-testom kontrolirane diference srednjih vrijednosti pokazuju značajna odstupanja kod stepena vjerojatnosti $P < 1\%$ i to $dX = 0,44^{xx}$

Tablica 3

K i s e l i n s k i s t e p e n						
SH (I)	n	Th (VI)	min	max	Th/2,5 = SH	Dif. u odnosu na (I)
6,40	2	15,50			6,20	— 0,20
		15,00	15,00	15,50	6,00	— 0,40
6,70	3	16,50			6,60	— 0,10
		16,50			6,60	— 0,10
		15,85	15,85	16,50	6,34	— 0,36
6,80	4	16,50			6,60	— 0,20
		16,25			6,50	— 0,30
		15,70			6,28	— 0,52
		16,10	15,70	16,50	6,44	— 0,36
7,20	5	17,50			7,00	— 0,20
		17,50			7,00	— 0,20
		17,25			6,90	— 0,30
		16,90			6,76	— 0,44
		16,80	16,80	17,50	6,72	— 0,48
7,40	12	18,00			7,20	— 0,20
		17,75			7,10	— 0,30
		17,50			7,00	— 0,40
		17,75			7,10	— 0,30
		17,50			7,00	— 0,40
		17,25			6,90	— 0,50
		17,00			6,80	— 0,60
		17,05			6,82	— 0,58
		16,80			6,72	— 0,68
		17,55			7,02	— 0,38
		17,30			6,92	— 0,48
		17,30	16,80	17,55	6,92	— 0,48
7,50	7	18,00			7,20	— 0,30
		17,50			7,00	— 0,50
		18,50			7,40	— 0,10
		18,25			7,30	— 0,20
		18,50			7,40	— 0,10
		17,80			7,12	— 0,38
		17,80	17,50	18,50	7,12	— 0,38

Iz prikazanih rezultata može se zaključiti, da ova metoda u našem slučaju ne podnosi uspoređenja s referencijskom metodom (SH I) unatoč tome, što se vršila titracija s mikrobiretom.

ZAKLJUČAK

Na osnovu iznijetog došle bi u obzir za titraciono određivanje kiselinskog stepena mlijeka metode po Soxhlet-Henkelu (I) i modifikacija (II). S obzirom na to, da su nađena između navedenih postupaka samo slučajna odstupanja u rezultatima i s obzirom na veću potrebnu količinu mlijeka kod postupka (I), moglo bi se preporučiti za praksu modifikaciju metode Soxhlet-Henkela (II). Kod izvođenja treba se striktno pridržavati uputstava datih u navedenoj literaturi.³

Literatura

1. Deutsche Methoden Kommission (1963): Säuregradbestimmung nach Soxhlet-Henkel (SH) Milchwissenschaft, 18, 10, 520.
2. Hoffer, H., N., Niederheim, F. (1967.): Fehler der pH Messung im frischen Morgen Milch Milchwissenschaft, 22, 10, 620—626.
3. Jennes, R., Patton S. (1967.): Grundzüge der Milchchemie, München.
4. Kervina, F., Sotlar, M., Slanovec, T., Arsov, A. Standardizacija u cilju dobijanja jedinstvenih kontrolnih metoda za ispitivanje mleka i mlečnih proizvoda. Tema 1970/71, Finansijski Poljoprivredno-šumarski centar, Beograd
5. Krejaković-Miljković, V. (1966): Odluka o minimalnoj otkupnoj ceni kravljeg mleka i stepen kiselosti mleka, Mljekarstvo, 16, 5.
6. Mengebier, H. (1969): Chemische Einheitsmethoden und Internationale Standards für Milch und Milcherzeugnisse, Kempten.
7. Steffen, C. (1971): Methoden zur Bestimmung der Gesamtmilchsäure und der Lactatkonfiguration in Käse und Milch, Schweizerische Milchzeitung, 97, 82, Wiss. Beil. 126.
8. Schulz, E., Voss, E. (1965.): Das Grosse Molkerei Lexikon A—Z, Kempten.
9. Stelkić, R. (1967): Primena indikatora u analizi mleka i mlečnih proizvoda, Mljekarstvo, 17, 8.
10. Stelkić, R. (1968): Metode određivanja kiselosti mleka, Mljekarstvo, 18, 6.

KALUPI ZA POLUTVRDE SIREVE

Zaharije MILANOVIĆ,
Agroekonomski institut PKB, Beograd

Glavna oprema za proizvodnju sireva i usavršavanje iste predmet je pažnje i aktivnosti kako proizvođača opreme tako i organizacija koje se bave snabdevanjem proizvođača sireva ili sarađuju na drugi način sa ovima. Postoji niz načina da i naši domaći proizvođači sireva budu upoznati s novim ostvarenjima, odnosno novim tipovima sirnih kada, presa i drugih sličnih uređaja, odnosno s kompletnim manje ili više mehanizovanim linijama. To međutim, ne važi kada su u pitanju sitnije stvari kao što su kalupi, sirarski alat i sl. Obrazloženje je jednostavno. Radi se o stvarima koje imaju u osnovi relativno niske

³) Metoda SH (II) — ME No 6, 1963: Temeljito promiješan uzorak mlijeka temperira se na približno 20°C. Priprema standarda za uspoređivanje: na 50 ml svakokratnog uzorka dodaje se 1 ml 5% vodene otopine CoSO. 7 H₂O. Titracija uzorka: na 50 ml uzorka dodaje se 2 ml 2% alkoholne otopine fenolftaleina i titrira s 0,25 n NaOH, do boje standarda. Za izračunavanje kiselinskog stepena (SH) množi se utrošene ml 0,25 n NaOH sa 2. Najveće dozvoljeno odstupanje kod paralelnog određivanja 0,2 SH.