

MLJEKARSTVO

LIST ZA UNAPREĐENJE MLJEKARSTVA

God. XVI

SEPTEMBAR 1966.

BROJ 9

Prof. dr Dimitrije Sabadoš, Zagreb

Zavod za mljekarstvo

Poljoprivredni fakultet

ISPITIVANJE JAČINE SIRILA

Sirilo kao industrijski proizvod namijenjen za savremenu sirarsku industriju dolazi u promet obično u tekućem stanju, kao ekstrakt, i u čvrstom stanju, kao sirilo u prahu. Potonje je obično deset puta koncentriranije, efikasnije, odnosno jače. Jačina tekućeg sirila najčešće iznosi 1:10 000, a za sirilo u prahu je obično 1:100 000. To znači da 1 ml sirila podsiruje 10 000 ml (10 litara), odnosno 100 000 g (100 kg) mlijeka **zagrijanog na temperaturu 35° C* (!) za vrijeme od 40 minuta (!)**. Navedena temperatura i vrijeme koagulacije mlijeka su konstante s pomoću kojih se određuje jačina sirila u slučaju da je ona nepoznata ili je treba provjeriti.

Svrha ispitivanja jačine sirila je kontrola vrijednosti označene na originalnim pakovanjima, odnosno ustanovljenje njegove tehnološke i ekonomske vrijednosti. Naime, i najsolidnije proizvedeno sirilo starenjem ili držanjem pod nepovoljnim uslovima (sunčano i difuzno svjetlo, viša temperatura, vlaga) gubi svoju ishodišnu jačinu, a nisu isključeni ni slučajevi patvorenja. Stoga se po proizvođačima sirila deklariranu jačinu može uvijek smatrati približnom, te je prije nabave većih količina sirila, ili upotrebe, vrlo svrsishodno provjeriti efikasnost sirenja. Zadatak je precizan. Međutim, ustanovljenje stvarne vrijednosti sirila, izražene njegovom jačinom, vezano je uz razne faktore čije opsežnije poznavanje i uvažavanje omogućuje maksimalno približavanje postavljenom cilju.

Prije spomenute oznake jačine sirila polaze od SOXHLET-ove definicije jačine sirila (god. 1877.), bazirane na postavci Danaca STORCH-a i SEGELKE-a (god. 1870.), da je jačina sirila produkt dobiven iz umnoška količine sirila («s» u miligramima) i vremena zgrušavanja («v» u sekundama) konstantan («c»): $s \times v = c$. Prvu korekturu ovog gledišta dala su ispitivanja W. GRIMMER-a i dr. Ustanovljeno je da se sa porastom količina sirila uzetih u ispitivanje sve više povećavaju izračunate vrijednosti, ali se u stvari brzina zgrušavanja mlijeka usporava. Odnosno, za jednako vrijeme zgrušavanja potrebna je veća količina sirila, te su vrijednosti za jačinu sirila sve manje.

Prema W. GRIMMER-u (2) brzina se koagulacije mlijeka, uz inače iste uvjete, naglo povećava s porastom stupnja kiselosti mlijeka. Iz te zakonitosti,

* U novije vrijeme se predlaže 37° C.

koju ilustriraju primjeri u priloženoj tablici, proizašla je potreba postavljanja određene norme za kiselost svakog mlijeka upotrebljenog za ova ispitivanja. Po prijedlogu W. GRIMMER-a, ta iznosi 7° SH. Budući da se rijetko raspolaže baš takvim mlijekom, to se jačina sirila određuje kod različitih stupnjeva kiselosti istog mlijeka, ali što bližih zadanoj normi. Izračunate vrijednosti jačine sirila se tim više približuju jačini sirila kod 7° SH mlijeka čim je manja razlika između kiselosti mlijeka. Brzina zgrušavanja mlijeka je logaritamska funkcija porasta kiselosti, tj. nije u proporcionalnom odnosu.

Utjecaj kiselosti mlijeka na rezultate određivanja jačine sirila

Stupanj kiselosti mlijeka, ° SH		Vrijeme zgrušavanja mlijeka u sek.		Jačina sirila, 1 : x	
1	2	1	2	1	2
—	6,3	—	1490	—	32 300
6,5	—	1035	—	46 400	—
—	6,6	—	1020	—	47 100
—	6,9	—	720	—	66 700
—	7,0	—	660	—	72 700
7,2	7,2	650	570	71 400	84 200
—	7,4	—	505	—	95 100
—	7,8	—	400	—	120 000
8,2	8,2	365	315	131 500	152 400
—	8,5	—	275	—	174 500
8,6	—	294	—	163 000	—
8,8	—	272	—	177 000	—
—	9,2	—	212	—	226 400
9,4	—	212	—	226 000	—
10,2	10,2	160	134	300 000	363 600
10,5	—	148	—	324 000	—
10,8	—	140	—	343 000	—

Brzina koagulacije mlijeka sirilom ovisi još i o pH mlijeka, o solima mlijeka itd. Da bi se što više ublažio utjecaj sastava mlijeka uzima se, u pravilu (!), mješovito mlijeko od najmanje 10 muzara (bolje 15 i 20), zdravih, ispravno hranjenih, u laktaciji od 1 do 6 mjeseci. Citirajući H. HOSTETTLER-a, O. ŠČEDROV i Lj. LEŠIĆ (10), u vrlo iscrpnoj obradi problematike sirila, navode da »pri radu sa smjesnim mlijekom kolebanja vremena zgrušavanja kod pokusa unutar jedne godine iznose oko 8%«. Nipošto ne odgovara mlijeko od staro-dojnih krava, niti kiselije od 8°SH. Kod ispitivanja sirila u prahu ovo mora stajati otopljeno najmanje 15 minuta prije unošenja u mlijeko. Svako sirilo, otopinu ili razrjeđenje, treba temperirati na 35°C, ili temperaturu ispitivanog mlijeka prethodno povisiti toliko da se u času miješanja sa sirilom snizi na 35° C. Ispuhivanjem pipete sirilo se brzo uštrcava u mlijeko.

Čim je upotrebljena manja količina mlijeka, tim je potrebna veća pažnja kod svih postupaka ispitivanja. Najpouzdaniji je rad s 1000 i 500 ml, a teži sa 100, il čak sa 50 ml mlijeka.

Metode određivanja jačine sirila su, prema H. HOSTETTLER-u (5) subjektivne: vizuelne i kapilarne, te objektivne: optičke i viskozimetrijske. Potonje dvije dolaze u obzir samo kod naučnih istraživanja, dok se vizuelna metoda primjenjuje redovito i u mljekarskoj praksi i u naučnoistraživačkom radu. Ova metoda »osniva se na ustanovljenju trenu u kojem oko primjećuje tvorbu pahuljica« (5). Naime, »s čisto fizikalnog gledišta može se djelovanje sirila smatrati agregacijom koloidalno suspenzuiranih čestica kazeina, pri čemu tren označen kao tačka zgrušavanja predstavlja stanje kod kojega čestice dosegnu veličinu zamjetljivu ljudskim okom. Prema tome djelovanje sirila nije ništa drugo do povećavanje čestica kazeina. Od presudne je važnosti oštrina kojom se uspijeva uočiti moment zgrušavanja kod određivanja jačine sirila« (5). Vizuelne metode, unatoč subjektivnosti, izvanredno dobro služe, te su, uz više paralelnih određivanja ili kod uzastopnih određivanja u kratkom vremenu, nezamjenjive zbog brzine i jednostavnosti. Stoga razloga im i H. HOSTETTLER (5) daje prednost.

Subjektivne, individualne razlike između rezultata dvaju uvježbanih analitičara malene su kod vizuelnog određivanja jačine sirila. Obično variraju do 3% (6). N. J. BERRIDGE (1) je ustanovio prosječnu razliku do 2% kod zgrušavanja do 200 sekundi, što smatra beznačajnim za ustanovljenje jačine sirila. Razlike se povećavaju s porastom vremena zgrušavanja. Kod zgrušavanja između 10—15 minuta iznose 3—5 sekundi.

U okviru citiranih navoda H. HOSTETTLER-a i N. J. BERRIDGE-a su i autorovi rezultati u raznim ispitivanjima; kao npr.:

Vrijeme do zgrušavanja (minute i sekunde)

2'3" : 2'6" ;	3'28" : 3'31" ;
6'42" : 6'42" : 6'44" ;	7'57" : 7'53" ;
8'32" : 8'37" ;	8'50" : 8'47" ;
8'32" : 8'38" ;	8'10" : 8'11" : 8'12" ;
8'8" : 8'8" ;	8'5" : 8'12" ;
9'8" : 9'14" ;	
12'25" : 12'32" ;	
16'32" : 16'45" ;	
20'21" : 20'39" : 20'32" .	

Prednost imaju metode s kratkim vremenom zgrušavanja, budući da omogućuju lakše ispravno očitavanje, odnosno uočavanje tačke zgrušavanja.

Otopina sirila se lako pjenu, što treba izbjegavati, jer se mjehuriće pjene vrlo teško odstranjuje. Naročito je česta pojava pjene kod nepažljivog mućkanja pri otapanju sirila u prahu. Ukoliko se stvori pjena, može se je odstraniti opreznim kucanjem po mjestima gdje se mjehurići dotiču stijena tikvice ili se sačeka da pjena iščezne. Duže stajanje snizuje djelotvornost sirila u vodenoj otopini.

Kod ovih ispitivanja vrlo je važno da su pipete dobro očišćene, da je otopina sirila prije odmjeravanja, u bilo koju svrhu, dobro promiješana, i da se pipete prije svakog odmjeravanja nekoliko puta isplahnju ispitivanom otopinom sirila.

Pogreške u očitavanju stupnja kiselosti mlijeka mogu se izbjeći uz pomoć paralelnog uzorka istog mlijeka obojenog standardnom otopinom kobaltnog sulfata. Nepouzdanost je ustanovljena tačke neutralizacije mlijeka po nijansi ružičaste boje prosuđene »prema iskustvu«.

U svjetskoj stručnoj literaturi iz mljekarstva, i u inozemnoj praksi, postoje različite, među njima i službene vizuelne metode za ispitivanje jačine sirila. Razlikuju se po koncentraciji sirila (razrjeđenje) i količini mlijeka, odnosno po normalnom vremenu koagulacije mlijeka u ispitivanju. Slijedeći prilog sadrži njihove karakteristike, kao i neke momente važne za ispravno određivanje jačine sirila.

1. Metoda po W. GRIMMER-u i sar. (3)

U tikvicu od 250 ml odmjeri se 0,5 g sirila u prahu (ili 5 ml tekućeg sirila), otopi ga ulijevanjem oko 150 ml destilirane vode i ovom dopuni do odmjerne oznake. Od ispravno pripremljene otopine sirila doda se 5 ml u 500 ml mlijeka ugrijanog u vodenoj kupci na 35° C, sa stupnjem kiselosti ispod 7° SH, npr. 6,6° SH. U trenu unošenja sirila u mlijeko »štopa« se vrijeme, a mlijeko polagano miješa staklenim štapićem ili termometrom sve do momenta pojave prvih pahuljica u mlijeku, održavanom stalno na temperaturi od 35° C. To je ujedno svršetak ispitivanja, kad se prekida hod preciznog sata (»štoperice«) i ustanovi vrijeme (v), koje je iznosilo, npr., 22 minute i 50 sekundi.

Dio istog mlijeka izloži se temperaturi između 20 i 25° C. Povremenim određivanjem stupnja kiselosti toga mlijeka pusti se da poraste preko 7° SH, npr. do 7,2° SH. Ponovivši prije opisani postupak, ustanovi se vrijeme zgrušavanja mlijeka kod te kiselosti; npr. 16'20". Za oba slučaja izračuna se jačina sirila, a prava jačina, kod propisanog stupnja kiselosti od 7° SH, izračuna se interpolacijom iz dviju prijašnjih vrijednosti. Koncentraciju sirila podešava se uvijek tako da vrijeme do pahuljanja mlijeka traje približno kao u praksi, a najmanje 15—20 minuta. Naime, po W. GRIMMER-u, kod kratkog vremena do pahuljanja (2—3 minute) ne može se izračunati pravu jačinu sirila, koja bi se podudarala s prilikama u praksi.

Izračunavanje jačine sirila

$$J_s = \frac{M \cdot 2400}{s \cdot v} \text{ ili } \frac{500 \cdot 2400}{0,01 \cdot 1370} = 87\,591 \text{ i } \frac{500 \cdot 2400}{0,01 \cdot 980} = 122\,449$$

M = 500 ml mlijeka; 2400 = sekunde (40' × 60);

s = količina sirila u centigramima (0,5 g sirila u prahu u 250 ml vode i od toga 5 ml) 0,01 g;

v = vrijeme zgrušavanja mlijeka; za mlijeko sa 6,6° SH = 22'50" ili 1370", za mlijeko sa 7,2° SH = 16'20" ili 980".

$$\begin{array}{r} 7,2^\circ \text{ SH} \dots 122\,449 \\ - 6,6^\circ \text{ SH} \dots 87\,591 \\ \hline 0,6^\circ \text{ SH} \dots 34\,858 \\ \text{ili } 0,1^\circ \text{ SH} \dots 5\,809,7 \end{array}$$

Sa 0,1° SH mijenja se jačina sirila za vrijednost od 5809,7. Za diferenciju u kiselosti mlijeka od 6,6 do 7,0° SH, tj. za 0,4° SH iznositi će povećanje jačine

sirila $4 \times 5809,7$ ili 23 239, što se pribroji jačini sirila ustanovljenoj za mlijeko od 6,6° SH, tj. 87 591:

$$87\,591 + 23\,239 = 110\,830$$

Polazeći od istog principa, ali s kiselošću mlijeka od 7,2° SH, slijedi:

$$\begin{array}{r} 7,2^\circ \text{ SH} \dots 122\,449, \text{ razlika } 0,2^\circ \text{ SH} \times 5\,809,7 = 11\,619 \\ + 11\,619 \\ \hline \end{array}$$

110 830, odnosno jačina sirila za mlijeko sa standardnim stupnjem kislosti.

2. Službena metoda Saveza njemačkih poljoprivrednih kontrolnih i istraživačkih zavoda, u obradi G. SCHWARZ-a i sar. (8).

Tačno 100 mg sirila u prahu (ili 1 ml tekućeg), prethodno otopljenog u 50—60 ml destilirane vode prenese se u odmjernu tikvicu i dopuni do oznake za 100 ml. Od mješovitog mlijeka sa 6,5—7,0° SH odmjeri se 100 ml u porculansku zdjelicu i temperira u vodenoj kupci na 35° C. Uz neprestano miješanje mlijeka i otpuštanje sirila iz pipete sa 5 ml otopine sirila, u času kad je ispuhnuta polovina sirila, uključi se sat za precizno mjerenje brzine, produži se polagano miješanje termometrom*, tamo-amo, pazeći da se temperatura održi na $35^\circ \text{C} \pm 0,5^\circ \text{C}$ sve do početka koagulacije mlijeka. U taj se čas zaustavi štopericu i ustanovi tačno vrijeme koje je proteklo od dodavanja sirila u mlijeko do pojave prvih pahuljica*. Vrijeme do zgrušavanja mlijeka mora trajati najmanje 15 minuta. Tome zahtjevu treba prilagoditi koncentraciju ispitivane otopine sirila.

Isto se mlijeko prepusti spontanoj fermentaciji, a kad mu stupanj kislosti dosegne 7,0—7,5° SH, odredi mu se jačina, i to dvaput. To važi i za mlijeko s nižim aciditetom.

Jačinu sirila se izračunava, za svaki aciditet mlijeka, po donjoj formuli. Iz diferencije obiju vrijednosti (kao pod 1) izračuna se jačina sirila koja se očekuje za mlijeko sa 7,0° SH.

$$J_s = \frac{M \cdot 1000 \cdot 2400}{s \cdot v} \quad \text{ili} \quad \frac{100 \cdot 1000 \cdot 2400}{5 \cdot v}$$

M = količina mlijeka u ml;

s = količina sirila u mg;

v = vrijeme zgrušavanja izraženo u sekundama.

° SH mlijeka	Jačina sirila
7,2	103 344
— 6,6	— 67 998
0,6	35 346
0,1	5 891
103 344	67 998
— 2 · 5891 =	+ 4 · 5891 =
<u>11 782</u>	<u>23 564</u>
91 562	91 562

* Umjesto termometra za miješanje mlijeka prikladnija je crna staklena pločica veličine predmetnice. Na ovaj način se lakše uočava pahuljanje mlijeka.

Jačina sirila ustanovljena za mlijeko sa 7° SH iznosila je 1 : 91 562.

3. Danska metoda (7)

5 ml sirišnog ekstrakta razrijediti s destiliranom vodom do 100 ml; od ove otopine otpipetirati 1 ml (odgovara 0,05 ml originalnog tekućeg sirila) u 50 ml mlijeka, čija se temperatura održava u vodenoj kupci na 35° C. Sirilo se naglo ispuhne, bez prskanja, i miješa crnom staklenom pločicom. Daljnji postupak se ne razlikuje od prije opisanih.

Za sirilo u prahu pripremi se odgovarajuće razrjeđenje.

Ova, i daljnje metode preferiraju kratko vrijeme zgrušavanja mlijeka.

Iz ustanovljenog vremena zgrušavanja mlijeka (npr. 7'55") izračuna se koliko mlijeka usiri 1 ml sirila za 40 minuta (2400 sek.):

$$\frac{50 \cdot 2400}{0,05 \cdot 475} = 5053 \text{ ml mlijeka;}$$

jačina sirila je iznosila 1:5053.

Specijalni postupak, koji navodi A. J. OVERBY (7), je po E. M. TYGENSEN-u. Jačina sirila određuje se kao gore, ali u smjesi jednakih dijelova mlijeka i svježeg puferne otopine natrijevog acetata. Sastav: 42 g NaOH + 115 ml 80% octene kiseline + destilirana voda do 1000 ml. Ova smjesa ima pH oko 4,98^x.

4. Danska metoda (prema O. S. HANSEN-u) (4)

a) Od otopine 1 ml tekućeg sirila + 19 ml destilirane vode (faktor = 20) odmjeri se 1 ml u čašu sa 100 ml mlijeka (35°C) i polako miješa sa tamnom staklenom pločicom sve do početka pahuljanja mlijeka (npr. 6').

Sa 1/20 ml sirila usirilo se za 6' (35° C) 100 ml mlijeka, a sa 1 ml sirila usirilo se za 40' = $(100 \times 40 : 6 \times 20) = 13\ 333$ ml mlijeka;

jačina sirila je 1:13 333.

b) 0,1 g sirila u prahu otopiti u 20 ml destilirane vode i s 1 ml ove otopine zasiriti 100 ml mlijeka (35°C); v = 6'.

Istim načinom preračunavanja kao pod a) dobije se ista vrijednost, tj. 13 333 za količinu sirila od 0,1 g. Budući da se ispituje sirilo u prahu, a u smislu definicije jačine sirila ova se kod sirila u prahu odnosi na grame sirila, to je jačina 1 g ovog sirila u prahu jednaka 1 : 133 000.

5. Metoda prema K. TEICHERT-u (11)

1 g sirila u prahu otapa se u 100 ml destilirane vode, a od ove otopine uštrca se 1 ml (0,01 g sirila) u 100 ml mlijeka. Ako vrijeme zgrušavanja traje, npr., 3 minute i 5 sekundi ili 185 sekundi, to odgovara 1,89 sekundi za 1 g sirila. Koliko grama mlijeka će ova količina sirila moći zgrušati za 40 minuta (2400 sek.)?

$$1,89 : 100 = 2400 : x; x = 240\ 000 : 1,89 = 126\ 984;$$

jačina sirila iznosi 1:126 984.

Obično je prvo određivanje jačine sirila orijentaciono. Rezultati slijedećih dvaju ispitivanja su mjerodavni, ako se vrijeme zgrušavanja podudara na 1 — 2 sekunde.

6. Metoda prema M. TEPLY-ju (12)

Tačno 5 ml tekućeg sirila odmjeriti u odmjernu tikvicu od 100 ml i nadopuniti destiliranom vodom (20°C). U 500 ml mlijeka (u Erlenmeyerovoj tik-

* ili pH 5,0 prema M. TEPLY i dr. (12)

vici od 1000 ml), 7°SH, 35°C, naglo se ispuhne 10 ml otopine sirila (0,5 ml originalnog sirila), istovremeno pokrene štopericu, a zasireno mlijeko se dobro promiješa. Blagim njihanjem i kruženjem tikvice mlijeko se stalno drži u pokretu, tako da se na stijenci tikvice tvori fini jednolični film mlijeka, koji se posmatra u protusvjetlu. U času kad se u filmu mlijeka pojave prve vidljive pahuljice, tj. film se počne trgati na vrlo fine čestice, zaustavi se sat i ustanovi vrijeme koje je proteklo do zgrušavanja mlijeka. Jačina sirila se obično ispituje na 2 — 3 različita uzorka mlijeka.

Ako je vrijeme zgrušavanja iznosilo, npr., 3 minute i 30 sekundi, tj. 210 sekundi, jačina sirila iznosi:

$$500 : x = 210 : 2400; x = 500 \cdot 2400 : 210 = 5714.$$

Dobiveni rezultat važi za 0,5 ml sirila, a za 1 ml sirila iznosi $5714 \times 2 = 11\,428$. Jačina ispitnog sirila je 1 : 11 428.

U raznim zemljama postoje različiti zahtjevi za kvalitetu sirila s obzirom na njegovu jačinu. Naši propisi (9) reguliraju promet sirilom, među ostalim i obavezom da sirilo u prahu ima jačinu 1:50 000, 1:100 000 i 1:150 000 uz odstupanje do 5%/o; tekuće sirilo 1:5000 i 1:10 000, s dozvoljenim odstupanjem do 10%/o, i sirilo u tabletama 1:20 000 i 1:40 000, \pm 5%/o. Metode određivanja jačine sirila nisu dosad propisane.

Pri razmatranju ovoga pitanja potrebno je uvažiti da, pored promjenljive kiselosti, postoje i razlike u sastavu raznih mlijeka u različitim krajevima, odnosno u područjima različitih sirarskih pogona, kao i razlike u mlijeku pojedinih muzara i stada u istim područjima, te u istim i u različitim godišnjim razdobljima. To je jedan od razloga da neki od najrenomiranih svjetskih proizvođača sirila, kao npr. Chr. Hansen's Laboratorium A/S, København, ne označuju jačinu svojih sirila.

Da je pitanje jačine sirila vrlo složeno i delikatno, može potvrditi i mišljenje H. HOSTETTLER-a i dr., saradnika švicarskog Saveznog istraživačkog instituta za mljekarstvo, Liebefeld — Bern, budući da »spomenute metode dozvoljavaju samo usporedbu, ali ne i određivanje apsolutne jačine sirila«, jer »nisu potpuno poznati procesi koji se zbivaju kod zgrušavanja mlijeka«. U proizvodnji sirila je zbog toga uobičajeno uspoređivanje jačine vlastitog sirila s jačinom standardnog sirila proizvedenog u tu svrhu u nekom od istaknutih instituta za mljekarstvo, kao što je, npr., spomenuti institut u Švicarskoj i sl.

Za potrebe naše sirarske industrije mogu se, do službenog ujednačenja metoda u zemlji ili u međunarodnom prometu, primijeniti neke od prikazanih metoda za ispitivanje jačine sirila. Uspoređenje rezultata ispitivanja i donošenje upotrebljivih zaključaka moguće je samo kad su dobiveni istim metodama.

LITERATURA

1. BERRIDGE N. J.; »The Analyst«, 1952
2. GRIMMER W.: »Milchw. Praktikum«. Leipzig, 1926.
3. GRIMMER W., WEIGMANN H., WINKLER W.: »Handbuch der Milchwirtschaft, II/II, Wien, 1939.
4. HANSEN O. S., poglavlje u »Fremstilling of Danske Ostesorter. København, 1959.
5. HOSTETTLER H., STEIN J., IMHOF K.: »Die Bestimmung der Gerinnungspunktes bei der Labgerinnung der Milch«. »Milchwissenschaft«, 1955, br. 6.
6. HOSTETTLER, RÜEGGER, »Landw. Jahrbuch der Schweiz«, 1950.
7. OVERBY A. J.: »Analismetoder til brug ovelserne i Mejerikemi og Mejeribakteriologi for mejeribrugsstuderende ved Den Kgl. Vet.-og Landbohøjskole«. København, 1959.