

Imunološki test otkrivanja dodavanja kravljeg u kozje mlijeko*

Branka Magdalenić, Silva Evačić, Vesna Jovanović – Bunta, Ljiljana
Kostanjevac

Izlaganje sa znanstvenog skupa – Conference paper

UDK:637.12/639

Sažetak

Kozje mlijeko zbog svog sastava danas zauzima sve više mjesto u proizvodnji posebnih i traženih mliječnih proizvoda. S obzirom na količinu i različitu cijenu često se kozjem mlijeku dodaje kravlje mlijeko. Za brzo odvajanje kozjeg mlijeka od kravljeg mlijeka danas služe imunološke i elektroforetske metode.

Jedna od imunoloških metoda je i radijalna imunodifuzija koja se primjenjuje upotrebom CV-TESTA (Levieux, 1977.)

Mlijeko za analizu stavlja se u sloj agara koji sadržava antiserum svojstven za kravlje mlijeko. Mjerenjem difuzije koja nastaje poznatom imunološkom reakcijom s antiserumom i uz pomoć referentne krivulje dolazi se do proporcionalne količine dodanog kravljeg mlijeka u analiziranom uzorku.

Primjenom CV-TESTA u rutinskoj analizi može se u kratku vremenu otkriti patvorenje kozjeg mlijeka, a samim tim omogućuje se upotreba čistoga kozjeg mlijeka za proizvodnju specifičnih i visoko vrijednih traženih mliječnih proizvoda.

Riječi natuknice: kozje mlijeko, dodavanje kravljeg mlijeka, imunološka metoda (CV-test), otkrivanje patvorenja

Uvod

Kozje mlijeko je svojim sastavom slično kravljem mlijeku. Sadržava oko 13,7% suhe tvari, 4,4% masti, 3,1% bjelančevina, 4,9% laktoze, 0,8% pepela. Sastav može varirati u ovisnosti o pasmini i uvjetima uzgoja koza.

Nosilac hranjive uloge (aminokiselina) u kozjem mlijeku je kazein. Kozji kazein je po redoslijedu aminokiselina sličan kravljem. Kazeinski kompleks je sastavljen od α , β , kapa kazeina. Do sada nije ustanovljena u kozjem mlijeku prisutnost γ kazeina.

Elektroforetska pokretljivost pojedinih frakcija kazeina na poliakrilamidnom gelu (PAG) razlikuje se od istih iz kravljeg i kozjeg mlijeka. Ta sposobnost omo-

* Rad izniet na XXX. jubilarom znanstveno-stručnom agronomskom savjetovanju, održanom u Puli, 1994.

gućava da se elektroforezom identificira kazein u miješanom mlijeku. Elektroforezom na poliakrilamidnom gelu (PAG) mogu se jasno izdvojiti frakcije α i β kazeina kozjeg mlijeka (Vujčić, 1985.).

Kozje mlijeko djeluje izrazito baktericidno. Imunološke analize bjelančevina kozjeg mlijeka pokazuju visoku specifičnost. Imunološkom reakcijom tj. antiserumom s kravljim mlijekom može se otkriti čak 1-2% kravljeg mlijeka ako je dodavano kozjem mlijeku.

Te dvije metode koje su utemeljene na elektroforezi i imunološkim reakcijama osnova su brzog određivanja patvorenja kozjeg mlijeka kravljim mlijekom, o čemu govore i podaci literature (Bonhomme, 1981; Foissy, 1976; Levieux, 1977; Pierre, 1971; Radford i sur. 1981).

CV-TEST, koji je primijenjen u našim istraživanjima, također je primjena imunološke radijalne imunodifuzije.

Svrha rada je bila proučiti mogućnosti primjene CV-TESTA u rutinskoj kontrolnoj analizi kako bi se spriječilo dodavanje kravljeg mlijeka u kozje mlijeko.

Materijal i metode rada

Princip metode:

CV-TEST je kvantitativna metoda utemeljena na radijalnoj imunodifuziji. U ploči agara s ugrađenim specifičnim antiserumom izdubljeni su »zdenci« u koje se stavlja otopina antigena pripremljena obradom uzorka. Antigen difundira iz »zdenca« u agar (reakcija s antiserumom), te se oko »zdenca« stvara prsten precipitata, promjera razmjerna koncentraciji antigena. S uzorkom poznate koncentracije antigena načini se baždarena krivulja kojom se mjerenjem promjera nastalog prstena određuje nepoznata koncentracija antigena (Allegretti i sur., 1984; Levieux, 1977.).

Priprema uzorka mlijeka:

Na 10 ml uzorka kozjeg mlijeka doda se oko 6 kapi koncentriranog sirila, inkubira se 12 sati pri 37°C. Nakon završene inkubacije uzorak se centrifugira 10-15 minuta (2000-3000 okr/min). U kiveti nastaju tri sloja: sloj masnih tvari, srednji sloj – laktoserum i talog kazeina. Uzima se pažljivo 0,5 ml laktoseruma i čuva pri + 4 C do upotrebe.

Postupak

Mikropipetom uzima se 0,010 ml uzorka laktoseruma i stavlja u jedan »zdenac« na agarnu ploču s antiserumom. Ploča s uzorcima se inkubira pri 37°C. Nakon inkubacije ploča se prekrije s 2% octenom kiselinom u trajanju oko 2 minute i ispiru destiliranom vodom oko 3 minute.

Patvoreni uzorci stvaraju oko »zdenca« prsten precipitata. Promjer prstena precipitata mjeri se povećalom s mikrometrom. Izmjereni promjeri nanose se na baždarenu krivulju i očitava % dodanog kravljeg mlijeka u kozje mlijeko.

Rezultati i rasprava

Analizirano je 100 uzoraka kozjeg mlijeka. Rezultati testa provedenih na 10 ploča s agarom sa po 10 uzoraka mlijeka na svakoj ploči prikazani su u tablicama 1 do 10. U 20 uzoraka utvrđena je prisutnost kravljeg u kozjem mlijeku, koja se kretala od 2,2 do 2,9%.

S obzirom na to da je metoda jednostavna i brza, može se primijeniti u rutinskoj kontrolnoj analizi kao pouzdan način otkrivanja dodavanja kravljega mlijeka kozjem.

Tablice (ploče) 1–10. Rezultati CV Testa otkrivanja patvorenja kozjeg mlijeka dodavanjem kravljeg

Tables (plates) 1–10 Detection of cow milk adulteration in goat milk using CV Test

PLOČA br. 1
PLATE no. 1

	UZORCI SAMPLES	Ø	%
1	9003	–	0
2	9004	–	0
3	9005	–	0
4	9006	–	0
5	9007	–	0
6	9008	–	0
7	9009	–	0
8	9010	–	0
9	9011	–	0
10	9012	–	0

PLOČA br. 2
PLATE no. 2

	UZORCI SAMPLES	Ø	%
1	9013	–	0
2	9014	–	0
3	9015	–	0
4	9016	–	0
5	9017	–	0
6	9018	–	0
7	9019	–	0
8	9020	–	0
9	9021	–	0
10	9022	–	0

PLOČA br. 3
PLATE no. 3

	UZORCI SAMPLES	Ø	%
1	9025	–	0
2	9026	–	0
3	9027	–	0
4	9028	–	0
5	9029	–	0
6	9031	–	0
7	9033	–	0
8	9034	–	0
9	9035	–	0
10	9036	8,1	15,0

PLOČA br. 4
PLATE no. 4

	UZORCI SAMPLES	Ø	%
1	9036	5,7	4,5
2	9036	5,9	5
3	9036	6,5	7,2
4	9037	–	0
5	9038	–	0
6	9040	9,9	29
7	9041	–	0
8	9041	8,4	18
9	9041	9,1	22
10	9042	–	0

PLOČA br. 5
PLATE no. 5

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9056	-	0
2	9056	-	0
3	9057	-	0
4	9058	-	0
5	9059	6,5	7,5
6	9059	-	0
7	9059	5,5	3,8
8	9060	-	0
9	9062	-	0
10	9063	-	0

PLOČA br. 6
PLATE no. 6

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9069	-	0
2	9070	-	0
3	9070	-	0
4	9070	-	0
5	9073	-	0
6	9075	-	0
7	9075	5,3	3,5
8	9075	5,1	2,6
9	9076	-	0
10	9077	5,3	3,5

PLOČA br. 7
PLATE no. 7

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9077	8,1	24
2	9077	-	0
3	9078	-	0
4	9078	-	0
5	9079	-	0
6	9079	-	-
7	9080	-	0
8	9081	-	0
9	9081	-	0
10	9082	-	0

PLOČA br. 8
PLATE no. 8

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9085	-	0
2	9085	-	0
3	9086	-	0
4	9086	-	0
5	9088	0	0
6	9088	-	0
7	9090	4,9	2,2
8	9018	7	10
9	9018	5,2	3
10	9018	-	0

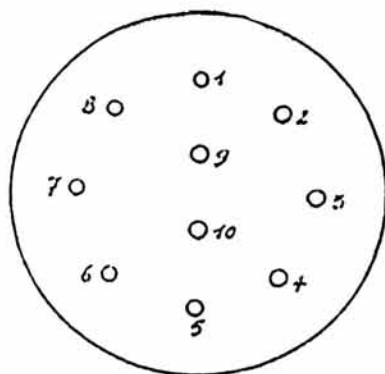
PLOČA br. 9
PLATE no. 9

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9019	-	0
2	9019	5,4	3,6
3	9019	-	0
4	9003	5,2	3,2
5	9003	-	0
6	9003	-	0
7	9004	5,3	3,5
8	9004	-	0
9	9004	7	10
10	9004	-	0

PLOČA br. 10
PLATE no. 10

UZORCI SAMPLES		Ø	%
1	9043	-	0
2	9043	-	0
3	9048	-	0
4	9054	-	0
5	9041	-	0
6	9003	-	0
7	9003	-	0
8	9004	-	0
9	9036	-	0
10	9036	-	0

Ø - promjer zone difuzije
DIAMETER OF DIFFUSION ZONE% - kravljeg mlijeka u kozje - (očitanje na
iz baždarene krivulje)
COW'S MILK ADDED TO GOAT'S
MILK (read on gauging curve)



Slika: promjer prstena precipitata u uzorcima kravljeg mlijeka dodanog u kozje.

Figure: diameter of precipitate ring in samples of cow milk added to goat milk

APPLICATION OF IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF COW MILK IN GOAT MILK

Summary

Goat milk takes now-a-days important place in production of specific and looked for dairy products owing to its composition. On account of its quantity and different price goat milk is often adulterated with cow milk.

For quick detection and quantification of cow milk in goat milk immunoassays and electrophoretic methods are used.

Radial immunodiffusion is one of immunoassays applying CV Test (Levieux, 1977).

Milk sample is put in agar layer containing specific antiserum for cow milk. Measuring the diffusion developed owing to known immunologic reaction with antiserum by means of reference curve it is possible to achieve the added proportion of cow milk quantities in analysed milk samples.

Applying CV Test in routine analysis enables quick detection of goat milk adulteration and, by that very fact, the use of pure goat milk in processing is of specific worth and asked for dairy products.

Additional index words: goat milk, added cow milk, immunoassay (CV Test), detection of adulteration

Literatura

- ALLEGRETTI, N., ANDREIS, I., ČULO, F., MARUŠIĆ, M., TARADI, M. (1984), Imunologija, Školska knjiga Zagreb, 150-152.
- BONHOMME, D.D. (1981), Adulteration of Tourine goats milk and goats milk cheese by addition of cows milk. Toulouse, France, Ecole Nationale Veterinaire 130 s.

- FOISSY, H. (1976), Methods for differentiating milk from different animals, **Oesterreische Milchwirtschaft**, 31, (3, Beilage 2) 5-8.
- LEVIEUX, D., (1977), New technique for detecting adulteration of goats milk and ewes milk. **Dossiers de l' Elevage**, 2, (2) 37-46.
- PIERRE, A., (1971), Differentiation of goats cows and ewes milk. **Technicien du lait** (June) 7,9,11,13,15,17,18,19.
- RADFORD, D.U., TCHAN, Y.T. Mc PHILIPS, J. (1981), Detection of cows milk in goats milk by immunoelectrophoresis. **Australian Journal of dairy Technology**, 36 (4) 144-146.
- VUJČIĆ, I.F., (1985), Mlekarstvo, Naučna knjiga Beograd, 129-132.

Adrese autora – Authors' addresses:

Mr. sci. Branka Magdalenic, dipl. ing.
Silva Evačić, dipl. ing.
Vesna Jovanović-Bunta, dipl.vet.
Ljiljana Kostanjevac, dipl.ing.
Prehrambena industrija VINDIJA d.d.
Varaždin, Međimurska 6

Primljeno – Received:

10. 3. 1994.