

Komparacija dviju metoda utvrđivanja laktoze u sirutki*

Matilda Grüner, M. Filajdić, D. Hanser

Stručni rad — Professional paper

UDK: 637.344.8

Sažetak

U radu se uspoređuju gravimetrijske (A) i enzimne (B) metode utvrđivanja laktoze u 7 uzoraka sirutke s dva ponavljanja. Analizom varijance ustanovilo se da postoje bitne razlike između te dvije metode.

Obzirom da relativno malo laboratorija naših mljekara koriste enzimnu metodu, opisan je postupak preračunavanja rezultata postignutih gravimetrijskom metodom u one koje bi se moglo očekivati s enzimnom metodom. Proračun je izveden primjenom matricne algebre za linearni i kvadratni model slijedećih obilježja:

$$\hat{Y}_{(1)} = -0,2754 + 1,0736 (X_j) \dots\dots (1)$$

$$\hat{Y}_{(2)} = 2,4613 - 0,2975(x_j) + 0,1705(x_j)^2 \dots\dots\dots (2)$$

gdje su:

x_j = maseni udjeli (g/100 g) laktoze utvrđeni gravimetrijskom metodom

$\hat{Y}_{(1)}$ i $\hat{Y}_{(2)}$ su izračunati rezultati koji se mogu očekivati prema enzimnoj metodi.

Riječi natuknice: Određivanje laktoze; Metode — gravimetrijske, enzimne; Proučavanje rezultata.

U okviru kemijskih i fizikalno-kemijskih metoda koje se primjenjuju u procjeni kakvoće sirutke značajno mjesto zauzimaju metode utvrđivanja laktoze.

Prema podacima iz literature (Schormüller, 1967; Hast i Fisher, 1971; A.O.A.C., 1990) primjenjuje se čitav niz metoda koje su, doduše, precizne, ali i dugotrajne.

U ovom radu želi se usporediti enzimna metoda (Boeringer, 1983) kao brza i precizna s klasičnom metodom Meissl (A.O.A.C., 1990). U analizi je korišteno 7 uzoraka s po dva ponavljanja sirutke.

Rezultati i rasprava

Utvrđeni rezultati laktoze, izražavani kao maseni udjeli (g/100 g) gravimetrijskom metodom — označeno slovom A i enzimnom metodom — označeno slovom B, uneseni su u tablicu 1. Pored pojedinačnih rezultata mjerenja uneseni su u tablicu i podaci o prosječnim vrijednostima i relativnim disperzijama za svaki od sedam uzoraka.

* Rad je iznijen na XXX Simpoziju za mljekarsku industriju, održanom u Zagrebu, 1992. godine.

U želji da se detaljnije prouči postoje li razlike u utvrđenim iznosima laktoze istraženih uzoraka primjenom dvije metode, upotrebljen je postupak analize varijance (Montgomery, 1984). Rezultati proračuna uneseni su u tablicu 2.

Statistička analiza pokazala je da su svi izvori varijacije (razlike između uzoraka, metoda i njihove interakcije) bili statistički značajni (Razina značajnosti $P < 0,01$). Iako je primjenjenom statističkom interpretacijom postignutih rezultata ustanovljeno da ne postoje bitne razlike između enzimne i gravimet-

Tablica 1. Laktoza u sirutki određena pomoću dvije metode (g/100 g)

Table 1. Lactose in whey determined using two methods (g/100 g)

Uzorci Samples	Metoda A Gravimetrija		(Methode A) (Gravimetric)		Metoda B Enzimna		(Method B) (Enzimatic)	
	1	2	\bar{x}_A	CV% _(A)	1	2	$\bar{x}_{(B)}$	CV% _(B)
1	4,46	4,41	4,435	0,80	4,44	4,48	4,460	0,63
2	3,82	3,85	3,835	0,55	3,71	3,72	3,715	0,19
3	3,88	3,90	3,89	0,36	3,98	4,00	3,990	0,35
4	3,50	3,48	3,49	0,41	3,51	3,51	3,510	0,00
5	4,42	4,39	4,405	0,48	4,70	4,69	4,695	0,15
6	4,43	4,38	4,405	0,80	4,26	4,25	4,255	0,17
7	3,89	3,86	3,875	0,55	3,86	3,87	3,865	0,18

\bar{x}_A = Aritmetička sredina

\bar{x}_A = Arithmetical mean

CV% = Relativna disperzija ($s/\bar{x} \times 100$)

CV% = Relative disperzion

Prosjeci metoda \bar{x} (A) = 4,048

Averages \bar{x} (B) = 4,070

Standardne greške: $S_A = 0,3688$ CV_A% = 9,1%

Standard errors $S_B = 0,4213$ CV_B% = 10,3%

Tablica 2. Analiza varijance podataka iz Tabl. 1.

Table 2. Analysis of variance of data from Table 1.

Izvor varijacija SS Source of variations	DF	MS	F	Q	
Između uzoraka Between samples	3,633893	6	0,605649	1555,79 ⁺⁺⁺	$6,06 \times 10^{-19}$
Između metoda Between methods	0,003432	1	0,003432	8,82 ⁺⁺	0,0101
Interakcija (M × U) Interaction	0,0128693	6	0,021449	55,10 ⁺⁺⁺	$6,12 \times 10^{-9}$
Analitička greška Analytical Error	0,005450	14	0,000389		
Ukupno Total	3,771468	27			

SS = Sume kvadrata

SS = Sums of squares

DF = Stupnjevi slobode

DF = Degrees of freedom

MS = Prosječni kvadrati

MS = Mean squares

F = Fisher kvocijent

F = Fisher ratio

Q = Razina signifikantnosti

Q = Significance level

rijske metode u utvrđivanju laktoze, a enzimna metoda je mnogo brža i specifičnija. Provedena je regresijska analiza (Draper i Smith, 1981).

Kao nezavisna varijabla (\bar{x}_i) označeni su prosječni rezultati laktoze u uzorcima istraženim gravimetrijskom metodom, a kao zavisna varijabla (\bar{y}_i) oni određeni enzimnom metodom. Kvantitativni odnos između tih dviju varijabli utvrđen je matricnom algebrom (Dozet et al., 1984) kao linearni model slijedećeg oblika:

$$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1 (x) + \varepsilon \dots\dots\dots (1)$$

gdje su

β_0 i β_1 koeficijenti jednadžbe regresije prvog reda

\hat{Y} = izračunata vrijednost laktoze (g/100 g) koja se može očekivati enzimnom metodom

x = maseni udio laktoze (g/100 g) određen gravimetrijskom metodom.

Potrebni podaci za proračun su slijedeći:

$$\sum_{i=1}^7 \bar{y} = 28,49 \qquad n = 7 \qquad \sum_{i=1}^7 \bar{x}_i \bar{y}_i = 116,19975$$

$$\sum_{i=1}^7 \bar{x} = 28,335 \qquad \sum_{i=1}^7 \bar{x}^2 = 115,5123 \qquad \sum_{i=1}^7 \bar{y}^2 = 117,0193$$

Moment matrice podataka nezavisne varijable:

$$x'x = \begin{bmatrix} 7 & 28,335 \\ 28,335 & 115,5123 \end{bmatrix}$$

vektor nezavisne varijable

$$x'y = \begin{bmatrix} 28,49 \\ 116,19975 \end{bmatrix}$$

Koeficijenti jednadžbe β_0 i β_1 određeni su iz odnosa:

$b = (x'x)^{-1} \cdot (x'y)$ Rješenjem se postigla linearna jednadžba:

$$\hat{Y}_{(i)} = -0,2754 + 1,0736(x_i) \dots\dots\dots (1/a)$$

Efikasnost modela (1/a) izračunata je iz odgovarajućih suma kvadrata odstupanja na poznati način (7).

$$\frac{0,922898}{1,0650} \times 100 = 86,7\% \text{ Proračun je obavljen programom iz TI-74 — računala}$$

Obzirom da se linearnom jednadžbom moglo objasniti kvantitativnu povezanost varijabli s 86,7%, bilo je interesantno istražiti, osim linearnog, i kvadratni model.

Rješenje kvadratne jednadžbe postignuto je na analogan način matricnom algebrom te je dobivena kvadratna jednadžba slijedeće forme:

$$\hat{Y} = 2,4613 - 0,2975x_i + 0,1705x_i^2 \dots\dots\dots (2)$$

Izračunata je suma kvadrata kvadratnog modela (0,9413), a njegova efikasnost je iznosila $(0,9413/1,065) \times 100 = 88,39\%$. To je nešto bolje od linearnog modela. Razlike između eksperimentalnih podataka utvrđivanja laktoze gravimetrijskom metodom (kao nezavisnom varijablom \bar{x}_i) i enzimnom metodom, a time da je \bar{y}_i označavala eksperimentalne vrijednosti, a $\hat{y}_{(1)}$ i $\hat{y}_{(2)}$ izračunate vrijednosti linearnim (1.) i kvadratnim (2.) modelom, iznesene su u tablici 3 na razini svakog pojedinog uzorka.

Tablica 3. Pregled izračunatih i eksperimentalnih rezultata određivanja laktoze pomoću dvije jednadžbe

Table 3. Review of calculated and experimental results of lactose determination using two equations

Eksperimentalni podaci — Experimental data		Izračunati podaci — Calculated data				
\bar{x}_i	\bar{y}_i	$\hat{y}_{(1)}$	dif. ($\hat{y}_1 - \bar{y}_i$)	$\hat{y}_{(2)}$	dif. ($\hat{y}_2 - \bar{y}_i$)	
(1) 4,435	4,460	4,486	+0,026	4,496	+0,036	
(2) 3,385	3,715	3,841	+0,126	3,828	+0,113	
(3) 3,890	3,990	3,900	-0,090	3,884	-0,106	
(4) 3,490	3,510	3,471	-0,039	3,500	-0,010	
(5) 4,405	4,695	4,453	-0,242	4,449	-0,246	
(6) 4,405	4,255	4,453	+0,198	4,449	+0,194	
(7) 3,875	3,865	3,884	+0,019	3,869	+0,004	

\bar{y}_i = Laktoza određena enzimnom metodom
Lactose determined using enzyme method

\hat{y}_1 = Izračunato jednadžbom 1
Calculated using equation 1

\bar{x}_i = Laktoza određena gravimetrijskom metodom
Lactose determined using gravimetric method

\hat{y}_2 = Izračunato jednadžbom 2
Calculated using equation 2

Obzirom da je efikasnost kvadratnog modela nešto povoljnija od linearnog modela (88,39, 86,7%) on se može koristiti za preračunavanje rezultata laktoze određenih gravimetrijskom metodom u rezultate koji bi se mogli očekivati enzimnom metodom. Prosječna pogreška takvog proračuna iznosi oko 11,6%, što se može smatrati zadovoljavajućim za potrebe rutinske analize u laboratoriju kojem bi enzimna metoda bila nepristupačna iz bilo kojeg razloga. Onim laboratorijima kojima nije problem primijeniti enzimne metode, preporučuje se, za utvrđivanje laktoze u sirutki, koristiti enzimnu metodu.

Zaključak

Značajnost razlika između metoda provjeriti analizom varijance. Nadalje, kada se metode razlikuju bilo trajanjem, troškovima izvedbe i eventualno u preciznosti, postupak regresije omogućit će proračun rezultata za preferiranu metodu iako se eksperiment izvodi »jednostavnijom« ili, silom prilika »obaveznom« metodom. U ovom eksperimentu utvrđivani su rezultati laktoze pomoću gravimetrijske (Hast, Fisher, 1971) i enzimne (Boeringer, 1983) metode. U pokusu je analizirano 7 uzoraka u 2 ponavljanja. Matričnom algebrom utvrđivan stohastički odnos između rezultata postignutih gravimetrijskom metodom (x_i) i enzimnom metodom (y_i).

Odgovarajući modeli odnosa su glasili:

Linearna jednadžba $\hat{Y}_{(1)} = -0,2754 + 1,0736 (x_i)$ i

Kvadratna jednadžba $\hat{Y}_{(2)} = 2,4613 - 0,2975 (x_i) + 0,1705 (x_i^2)$

s odgovarajućim efikasnostima 86,7% i 88,4%.

Ovo rješenje može poslužiti za utvrđivanje laktoze u sirutki u kontrolnim laboratorijima koji iz bilo kojih razloga ne mogu koristiti enzimnu metodu, a željeli bi uspoređivati svoje rezultate s podacima laboratorija koji su koristili enzimnu metodu, pod uvjetom da se analize odnose na uzorke istovrsnog materijala.

COMPARISON OF TWO METHODS FOR LACTOSE DETERMINATION IN WHEY

Summary

In this article gravimetric (A) and enzymatic (B) methods for lactose determination have been compared in 7 samples of whey and two repetitions.

The statistical difference between these two methods was established by analysis of variance. As relatively few laboratories in our milk factories use enzymatic method, this article describes calculation procedure which would make possible to convert the results obtained by gravimetric method into those which would be expected using enzymatic one. The calculation by matrices algebra in linear and quadratic models has generated as follows:

$$\hat{Y}_{(1)} = -0,2754 + 1,0736 (x_i) \dots\dots (1)$$

$$\hat{Y}_{(2)} = 2,4613 - 0,2975(x_i) + 0,1705(x_i)^2 \dots\dots (2)$$

where:

x_i = mass fractions (g/100 g) of lactose determined by gravimetric method, $\hat{Y}_{(1)}$ and $\hat{Y}_{(2)}$ are calculated results which would be expected if using enzymatic method.

Additional index words: Lactose determination; Methods-gravimetric, enzymatic; Calculative results' convert.

Literatura

- BOERINGER, (1983): »Methoden der Enzymatischen Lebensmittel Analytik«, Boeringer Mannheim GmbH, Biochemica. »U. V. Test zur Bestimmung von Lactose und Galactose in Lebensmitteln« str. 37.
- DOZET VESNA, MILANA RITZ, FILAJDIĆ, M. (1984): Određivanje pektina u žele bombonima, P.T. RV B 7, 22 (1–2) 61–67.
- DRAPER, N.R., SMITH, H. (1981): Applied Regression Analysis, 2 Ed, J. Wiley, New York str. 70–136.
- HAST, F.L., FISHER, H.J. (1971): Modern Food Analysis, Springer Verlag, Berlin, 112, 192 384.

HERLICH KENNETH, (1990): Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. XVth Ed., Arlington, Virginia USA, 810—816.

MONTGOMERY, D.C. (1984): •Desing and Analysis of Experiments 2nd Ed., John Wiley and Sons, New York, str. 43—80.

SCHORMÜLLER, J. (1967): Analytik der Lebensmittel, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 345—346.

Zakon o preuzimanju Zakona o standardizaciji koji se u Republici Hrvatskoj primjenjuje kao republički Zakon, Narodne novine, br. 53/1991. str. 1548. Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka, te metoda kemijskih i fizikalnih analiza mlijeka i mliječnih proizvoda (Sl. list SFRJ br. 32/1983).

Adrese autora — Authors' addresses:

Prof. dr. Matilda Grüner

Prof. dr. Mirko Filajdić

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zagreb

Primljeno — Received

9. 12. 1992.