

IZUČAVANJE REFRAKCIJE MLJEČNOG SERUMA I REFRAKTOMETRIJSKOG BROJA*

Prof. dr Natalija DOZET, dr Marko STANIŠIĆ, mr Sonja BIJELJAC,
Poljoprivredni fakultet, Sarajevo

Ispitivanje refrakcije mlječnog seruma već dugi niz godina služi kao brza fizička metoda za dokazivanje dodane vode ili drugih svojstava mlijeka. Indeks refrakcije za čistu tečnost je karakteristična konstanta, pod određenim uslovima temperature i dužine loma svjetlosti. Indeks refrakcije čiste vode je na 20°C — 1,33299. Sve tečnosti koje u sebi sadrže soli i druge rastvorene materije, kao što je to slučaj sa mlijekom imaju indeks refrakcije veći od vode. Na principu konstantne vrijednosti indeksa refrakcije vode i utvrđenih vrijednosti indeksa refrakcije svježeg, dobrog mlijeka, utvrđuje se dodavanje vode u mlijeko.

Indeks refrakcije seruma mlijeka je relativno konstantna vrijednost, naročito kod zbirnog mlijeka, dok kod mlijeka individualnih grla dosta varira.

Ova metoda je jedna od propisanih metoda za dokazivanje vode u mlijeku prema »Pravilniku o kvalitetu mleka i proizvoda od mleka, sirila i mlekar-skih kultura, sladoleda i praška za sladoled, jaja i proizvoda od jaja«, te je utvrđivanje vrijednosti indeksa refrakcije i refraktometrijskog broja u uslovima sadašnje proizvodnje mlijeka važan zadatak u daljim ispitivanjima.

Poznato je da određeni reagensi koji se upotrebljavaju za dobivanje mlečnog seruma kao i tipovi refraktometra mogu da utiču na vrijednost dobijenog rezultata. Smatra se da upoređivanje rezultata dobijenih za refrakciju mlječnog seruma ima punu vrijednost ako su rađeni istom tehnikom, što je veoma teško postići. Da bi se mogle vršiti komparacije sa rezultatima drugih autora, potrebno je primijeniti na istom uzorku više metoda obaranja seruma i čitati rezultate na raznim tipovima refraktometara da bi se dobili odgovarajući zaključci.

Na izučavanju refrakcije mlijeka radili su mnogi autori čiji rezultati se kreću u granicama: Valentin (cit. 1.) od 1.3500—1,3502, Rangappa (cit. 2.) 1,3474—1,306, Jennes R. i Patton S. (3) 1,3449—1,3480 i drugi.

Metoda ispitivanja indeksa refrakcije u serumu mlijeka je uobičajena, te su radovi na ovom principu ispitivanja mnogobrojniji. Među prvim radovima na indeksu refrakcije seruma su ispitivanja Ackermann-a (cit. 1.) čiji su rezultati pokazali da se indeks refrakcije seruma kreće u granicama 1,3420—1,3429 na 17,5°C. Zajkovski G. J. (4) je našao da se vrijednost indeksa refrakcije seruma kreće od 1,342—1,3429, a Hofi A. A. i saradnici (5) su utvrdili da mlijeko individualnih krava ima srednju vrijednost za indeks refrakcije seruma 1,34416, a za zbirno mlijeko, 1,34383. Alais Ch. (6) smatra da čisto mlijeko ima indeks refrakcije seruma 1,34199— 1,34275.

Dozet N. (7, 8) je dobila vrijednost indeksa refrakcije seruma za individualna grla u prosjeku od 1,3422 do 1,34285, a Vasić J. (9) je takođe radila na mlijeku individualnih krava, indeks refrakcije se kretao od 1,3420—1,3424, a rezultati su bili bez velikih variranja. Dozet N. i saradnici (10, 11) su za zbirno mlijeko sa farmi dobili indeks refrakcije od 1,3425—1,3439.

* Referat sa XV Seminara za mljekarsku industriju, održanog 25. i 26. I 1977. na Tehnološkom fakultetu u Zagrebu

Imerzioni refraktometar za čisto, svježe mlijeko, ispitano na 20°C, na osnovu indeksa refrakcije daje refraktometrijski broj 38—40, a refrakcija vode kod 20°C je 14,5. Vrijednosti ispod 38 dozvoljavaju sumnju na razvodnjavanje mlijeka (6). Prema Tocher-u (cit. 2) normalna granica refraktometrijskog broja je 37—39. Ackermann i drugi (cit. 1) su našli da je refraktometrijski broj između 38,5—40,5, a Inihov (1) za zbirno mlijeko smatra da su kolebanja veća i kreću se od 37,1—41,2. Davis J. G. i dr. (2) smatraju da na imerzionom refraktometru, refraktometrijski broj čistog mlijeka varira od 36,5—40 na 20°C. Prema »Pravilniku« refraktometrijski broj ne smije biti niži od 39.

Na vrijednost indeksa refrakcije mlijeka prema radovima nekih autora utiče način dobijanja seruma. U radu Lataix-a (12) je prikazan detaljan literaturni pregled ispitivanja uticaja dobijanja seruma na refrakciju mlijeka. Razlike koje su se pojavile u rezultatima, Lataix smatra da dolaze od koagulantna i zadržanih albumina.

Materijal i metod rada

Ispitivanju refrakcije mlječnog seruma kao jednog od obaveznih metoda za ispitivanje kvaliteta mlijeka, prišli smo sa stanovišta utvrđivanja vrijednosti koje se dobijaju ovom metodom na svježem i zbirnom mlijeku, upotrebom tri metode ispitivanja, na dva tipa refraktometra Hilder-ovim i Zeiss-ovim imerzionim. U radu smo imali dvije grupe oglada A i B.

A) na ispitivanju indeksa refrakcije mlijeka radili smo već duži niz godina od 1964—1976. Broj uzoraka mlijeka individualnih grla je 1520, a zbirnog mlijeka 200 uzoraka. Čitanje indeksa refrakcije je bilo iz seruma po Ackermannu, dobijenog koagulacijom sa CaCl_2 .

B) Analize su rađene na 100 uzoraka svježeg zbirnog mlijeka iz UPI — OOUR — Industrija mlijeka i sladoleda Sarajevo. Sve tri metode su rađene na istom uzorku mlijeka. Serum smo dobili obaranjem sa slijedećim koagulantima: I — kalcijevim hloridom (CaCl_2), II — rastopinom bakrenog sulfata i heksaferanocita ($\text{CuSO}_4 + \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) i III — živinim hloridom (HgCl_2).

Rad se odvijao prema utvrđenim metodama. Ogled je izveden u novembru i decembru 1976. godine.

Čitanje rezultata smo vršili na refraktometru po Hilger-u na 20°C i na Zeiss-ovom imerzionom refraktometru na temperaturi 17,5°C. Destilovana voda kod Hilgerovog refraktometra je imala indeks refrakcije 1,333, a kod Zeiss-ovog na 20°C 14,5 (17,5° 15,5).

Refraktometrijski broj smo dobili prema skali za Zeiss-ov imerzioni refraktometar.

Rezultate ispitivanja mlijeka i izvršenog oglada smo obradili statistički.

Rezultati rada i diskusija

A) Ispitivanje sastava i svojstava mlijeka u uslovima proizvodnje na našim gazdinstvima je zadatak koji provodimo već duži niz godina. Manji broj autora u našoj stručnoj literaturi se bavio fizičkim konstantama mlijeka, te su normativi za kvalitet mlijeka u našim pravilnicima donošeni uglavnom prema podacima strane literature.

Podaci dobijeni našim ispitivanjem indeksa refrakcije mlijeka individualnih grla su rezultat obimnog rada i na većem broju uzoraka. Područje ispitivanja je bilo široko i obuhvatilo je sarajevski, banjalučki, mostarski i bijeljinski region. Rezultati ispitivanja su u tabeli 1.

Indeks refrakcije i refraktometrijski broj mlijeka individualnih krava

Tabela 1

Statistički pokazatelji	n = 1520	
	Indeks refrakcije	Refraktometrijski broj
min.	1,3388	29,7
max.	1,3460	48,7
\bar{X}	1,3428	40,2
S	0,0008	1,0994
KV u %	0,0569	2,7348
m \bar{X}	0,00002	0,0282
m _S	0,00001	0,0199
mKV	0,0011	0,0496

Prosječna vrijednost indeksa refrakcije, dobijena za sve uzorke je $\bar{X}=1,3428$, a refraktometrijski broj 40,2. Kretanje minimalnih i maksimalnih vrijednosti je dosta izraženo, te kod indeksa refrakcije ide od 1,3388—1,3460, a kod refraktometrijskog broja od 29,7—48,7. Međutim varijacioni koeficijent ukazuje da nije bilo mnogo kolebanja kod većine uzoraka. Bolji pregled dobijenih rezultata daje učestalost pojavljivanja indeksa refrakcije.

Učestalost pojavljivanja indeksa refrakcije mlijeka individualnih krava

Tabela 2

Granica klase	Učestalost pojavljivanja			
	Apsolutna	Kumulativna	Relativna	Relativno kumulativna
1,3380—1,3390	1	1	0,07	0,07
1,3390—1,3400	2	3	0,13	0,20
1,3400—1,3410	8	11	0,52	0,72
1,3410—1,3420	108	119	7,11	7,83
1,3420—1,3430	944	1063	62,12	69,95
1,3430—1,3440	347	1410	22,82	92,77
1,3440—1,3450	98	1508	6,44	99,21
1,3450—1,3460	11	1519	0,72	99,93
1,3460—1,3470	1	1520	0,07	100,00

U tabeli 2 se vidi da se 62,12 procenata uzoraka nalazi u klasi 1,3420—1,3430. samo 7,83 procenta je ispod ove granice, a ostali uzorci su pokazali veće vrijednosti od prosječnog rezultata. Prema našim ispitivanjima indeks refrakcije mlijeka individualnih grla se nalazi u granicama ispitivanja drugih autora.

Učestalost pojavljivanja refraktometrijskog broja mlijeka individualnih krava

Tabela 3

n = 1520

Granica klase	Učestalost pojavljivanja			
	Apsolutna	Kumulativna	Relativna	Relativno-kumulativna
29,0—31,0	1	1	0,07	0,07
31,0—33,0	2	3	0,13	0,20
33,0—35,0	7	10	0,46	0,66
35,0—37,0	60	70	3,95	4,61
37,0—39,0	647	717	42,56	47,17
39,0—41,0	563	1280	37,04	84,21
41,0—43,0	112	1392	7,37	91,58
43,0—45,0	102	1494	6,71	98,21
45,0—47,0	23	1517	1,51	99,80
47,0—49,0	3	1520	0,20	100,00

Iz rezultata izloženih u tabeli 3 se vidi da se veliki dio uzoraka nalazi u granici klasa od 37,0—39,0 i to 42,56 procenata, a 37,00 procenata u klasi od 39,0—41,0. Prema tabeli imerzionog Zeissovog refraktometra indeks refrakcije 1,34198 odgovara refraktometrijskom broju 38, a 1,34236 odgovara broju od 39, te se postavlja pitanje, prema dobijenoj raspoređenosti uzoraka, da li granična vrijednost refraktometrijskog broja u »Pravilniku« može da se primjenjuje, a da ne šteti proizvođače mlijeka.

Da bi bolje ukazali na ovaj problem posebno smo obradili uzorke čiji se refraktometrijski broj kretao od 38,1—38,9. To je ukupno 589 uzoraka ili 39,34 procenta na ukupan broj uzoraka. Ovako velika zastupljenost ove vrijednosti ovog refraktometrijskog broja dovodi u pitanje postavljenu graničnu vrijednost u »Pravilniku« tim više što i rezultati drugih autora uzimaju refraktometrijski broj 38 za dobro i kvalitetno mlijeko.

Indeks refrakcije i refraktometrijski broj je ispitivan i kod zbirnog mlijeka uzetog iz staje i kod prijema mlijeka u mljekari. Ovim ispitivanjem smo željeli izbjeći uticaj individualnih grla na vrijednost podataka. Rezultati ispitivanja su prikazani u tabeli 4.

Indeks refrakcije i refraktometrijski broj zbirnog mlijeka

Tabela 4

n = 200

Statistički pokazatelji	Indeks refrakcije	Refraktometrijski broj
min.	1,3400	33,0
max.	1,3441	43,0
S	1,3427	40,0
\bar{X}	0,0008	2,106
KV u %	0,0596	5,262
$m\bar{X}$	0,00006	0,149
mS	0,00004	0,105
mKV	0,00298	0,263

Indeks refrakcije za zbirno mlijeko u prosjeku je bio $\bar{X} = 1,3427$, sa minimalnom vrijednošću 1,3400, a maksimalnom 1,3441. Variranja rezultata, u poređenju sa mlijekom individualnih krava su bila manja. Refraktometrijski broj je u prosjeku bio 40,0 a kretanje minimalnih i maksimalnih vrijednosti je bilo od 33,0—43,6. Koeficijent variranja kod refraktometrijskog broja je bio nešto veći u odnosu na uzorke mlijeka individualnih grla. Upoređivanjem prosječnih vrijednosti dobijenih za mlijeko individualnih krava i za zbirno mlijeko, može se zaključiti da nema bitnih razlika. Indeks refrakcije i refraktometrijski broj po dobijenim rezultatima, nalaze se u granicama vrijednosti koje su dobili drugi autori.

Da bi bolje sagledali kretanje rezultata izradili smo učestalost pojavljivanja indeksa refrakcije i dali u tabeli 5.

Učestalost pojavljivanja indeksa refrakcije zbirnog mlijeka

Tabela 5

n = 200

Granica klase	Učestalost pojavljivanja			
	Apsolutna	Kumulativna	Relativna	Relativno-kumulativna
1,3400—1,3410	4	4	2,0	2,0
1,3410—1,3420	35	39	17,5	19,5
1,3420—1,3430	85	124	42,5	62,0
1,3430—1,3440	71	195	35,5	97,5
1,3440—1,3450	5	200	2,5	100,0

Karakteristično je da se 42,5 procenata uzoraka nalazi u klasi od 1,3420—1,3430, a 35,5 procenata u klasi 1,3430—1,3440, dok su ekstremne vrijednosti zastupljene sa niskim procentima. Ovi rezultati pokazuju da je mlijeko uzeto iz staja i iz mljekare imalo dobar kvalitet.

Učestalost pojavljivanja refraktometrijskog broja zbirnog mlijeka

Tabela 6

n = 200

Granica klase	Učestalost pojavljivanja			
	Apsolutna	Kumulativna	Relativna	Relativno-kumulativna
33,0—35,0	3	3	1,5	1,5
35,0—37,0	27	30	13,5	15,0
37,0—39,0	40	70	20,0	35,0
39,0—41,0	89	159	44,5	79,5
41,0—43,0	34	193	17,0	96,5
43,0—45,0	7	200	3,5	100,0

Analizom zbirnog mlijeka dobili smo bolji odnos, većih vrijednosti refraktometrijskog broja. U klasi od 39—40 nalazilo se 44,5 procenata uzoraka mlijeka, a u klasi od 37—39, bilo je 20 procenata.

Podaci iz tabele 6 ukazuju da se 65 procenata uzoraka nalaze u klasama refraktometrijskog broja višim od 39.

Rezultati ogleđa

Tabela 7

n = 100

Statistički pokazatelji	I (CaCl ₂) Indeks refrakcije	Refraktometrijski broj	II (CuSO ₄ + K ₄ Fe(CN) ₆) Indeks refrakcije	Refraktometrijski broj	III (HgCl ₂) Indeks refrakcije	Refraktometrijski broj
Refraktometar Hilger						
min.	1,3401	33,1	1,3400	33,0	1,3400	33,0
max.	1,3439	43,1	1,3439	43,1	1,3440	43,5
\bar{X}	1,3427	40,0	1,3427	40,0	1,3427	40,0
S	0,0008	2,098	0,0008	2,104	0,0008	2,104
KV u %	0,0596	5,245	0,0596	5,260	0,0596	5,260
$m\bar{X}$	0,00008	0,210	0,00008	0,210	0,00008	0,210
mS	0,00006	0,148	0,00006	0,149	0,00006	0,149
mKV	0,00421	0,371	0,00421	0,372	0,00421	0,372
Refraktometar Zeiss						
min.	1,3401	33,1	1,3401	33,1	1,3402	33,2
max.	1,3440	43,3	1,3439	43,1	1,3439	43,2
\bar{X}	1,3427	40,0	1,3427	40,0	1,3427	40,0
S	0,0008	2,116	0,0008	2,110	0,0008	2,084
KV u %	0,0596	5,290	0,0596	5,275	0,0596	5,216
$m\bar{X}$	0,00008	0,212	0,00008	0,211	0,00008	0,208
mS	0,00006	0,150	0,00006	0,149	0,00006	0,147
mKV	0,00421	0,374	0,00421	0,373	0,00421	0,368

Potrebno je naglasiti da vrijednost indeksa refrakcije i refraktometrijskog broja kod mlijeka individualnih krava više varira, da se vrijednost refraktometrijskog broja pomjera prema nižoj klasi, dok kod zbirnog mlijeka imamo ujednačenije rezultate i bolji odnos nižih vrijednosti refraktometrijskog broja prema graničnim vrijednostima propisanim »Pravilnikom«.

B) Polazeći od pretpostavke i rezultata koje su dobili drugi autori da koagulantni utiču na indeks refrakcije seruma i refraktometrijski broj mi smo radili ogled sa tri koagulantna kako smo to naznačili u metodu rada, na istim uzorcima mlijeka, a čitali na dva tipa refraktometara (vidi tabelu 7).

Rezultati ogleđa

U tabeli 7 su izloženi rezultati dobijeni obaranjem mlijeka sa tri koagulantna. Karakteristično je da su rezultati veoma ujednačeni, a minimalne razlike između metoda mogu se zanemariti.

Čitanje rezultata na dva tipa refraktometra također nije pokazalo razlike u vrijednostima indeksa refrakcije.

Razlike između metoda i aparatura

Tabela 8

Razlika između metoda

Čitanje na refraktometru Hilger			
	min.	max.	X
I : II	0,00	0,0002	0,000026
I : III	0,00	0,0003	0,000033
II : III	0,00	0,0001	0,000035

Čitanje na refraktometru Zeiss			
	min.	max.	X
I : II	0,00	0,0002	0,000036
I : III	0,00	0,0002	0,000025
II : III	0,00	0,0002	0,000025

Razlike između refraktometara

	min.	max.	X
Hilger — Zeiss I	0,00	0,0002	0,000022
Hilger — Zeiss II	0,00	0,0003	0,000044
Hilger — Zeiss III	0,00	0,0003	0,000044

Da bi još bolje istakli rezultate ogleđa, izradili smo razlike između metoda i aparature. Možemo izvući zaključak, da u našem ogleđu koagulanti i specifične metode dobijanja seruma nisu uticali na dobijene vrijednosti indeksa refrakcije, niti su tipovi refraktometara, pravilno baždareni i regulisani prije rada, pokazali razlike u rezultatima kod očitavanja.

Literatura :

1. INIHOV G. S.: Biohimiija moloka i moločnih produktov Pišćepromizdat, 1962. Moskva
2. DAVIS J. G., MAC DONALD F. J.: Richmond's dairy chemistry
3. JENNES R., PATTON S.: Principles of Dairy chemistry, 1959. London
4. ZAJKOVSKI G. J.: Himiija i fiziika moloka i moločnih produktov, 1950. Moskva
5. HOFI A. A., RIFAAT I. D., KHORSHID M. A.: *Indian J. Dairy Sci.*, 1966, 19, 118—121.
6. ALAIS C.: *Science du lait*, 1974. Sep.
7. DOZET N.: *Mljekarstvo* 18 (5) 1968. Zagreb
8. DOZET N.: *Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu*, XVII br 19, 1968. Sarajevo
9. VASIĆ J.: *Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu*, XXI—XXII, br 24—25, 1973—74. Sarajevo
10. DOZET N.: Stanišić M., Sumenić Sonja: *Mljekarstvo* 24 (10) 1974. Zagreb
11. DOZET N., STANIŠIĆ M., SUMENIĆ SONJA, PARIJEZ S.: *Mljekarstvo* 25 (1) 1975 Zagreb
12. LATAIX: *Le lait*, 1929. No 85.