

STANDARDIZACIJA KONTROLNIH LABORATORIJSKIH METODA U MLJEKARSTVU ODREĐIVANJE KOLIČINE MASTI U MLIJEKU*

Tatjana SLANOVEC, Marija SOTLAR, France KERVINA
Institut za mlekarstvo, Biotehniška fakulteta Ljubljana

Saradnici našeg instituta bave se već par godina problematikom odabiranja najsvrsishodnijih analitičkih postupaka za mlijeko i mlječne proizvode, imajući u vidu uhodanu internacionalnu praksu. To bi značilo, da bi se naši rezultati i preporuke uskladile s rezultatima i preporukama drugih institucija u SFRJ, koje se bave istom problematikom, što bi omogućilo pravilan i najbolji izbor. S druge strane, bilo bi potrebno po našem mišljenju, uključiti u navedeni rad laboratorije mljekarske industrije, koji bi bili u stanju, kako u pogledu opreme, tako i stručnog kadra, testirati odabrane analize u dužem razdoblju stručnog kadra, testirati odabrane analize u dužem razdoblju i tako potvrditi izbor i u praktičnim uvjetima. Neki specijalizirani laboratoriji, npr. u praškarama, koji posjeduju specijalnu laboratorijsku opremu i stručni kadar, mogli bi se uključiti direktno u prvu fazu rada. Tek nakon završetka osnovnog izbora i testiranja postupaka u praksi, moglo bi se definitivno predložiti određeni postupak za standardizaciju, koja bi onda bila obavezna za cijelu SFRJ. Kod navedene problematike trebale bi dakle saradivati naučno-istraživačke institucije s mljekarskom industrijom i proizvođačima mlijeka, jer u konačnoj fazi će rezultati tako obimnog rada poslužiti upravo njima.

U vezi s našim Pravilnicima među ostalim nailazimo na problem i kod određivanja mliječne masti. U članku iznijet ćemo problematiku u vezi s Gerberovom metodom. Ova metoda će se vjerojatno kod nas primjenjivati još duži period, iako predviđa novi Pravilnik i upotrebu Milko-Testera.

Poznato je, da se danas upotrebljava za masovno određivanje mliječne masti više analiza-postupaka-metoda, kao npr. acidometrijsko-butirometrijski postupak po Gerberu, nefelometrijsko mjerenje — Milko Tester, ultra crvena ekstinkcija-IRMA, brzina ultra zvuka — Dayrison (SAD) i još neke. Za nas je još uvijek najinteresantniji Gerber, iako neki laboratoriji već upotrebljavaju Milko Tester. Također je poznato, da je najtočnija metoda za odre-

* Referat sa III Simpozija »Savremena proizvodnja i prerada mlijeka«, Bled, travanj 1971., Biotehniška fakulteta, Institut za mlekarstvo, Ljubljana.

đivanje mliječne masti, gravimetrijska ekstrakcijska metoda Röse-Gottlieb, koja je unijeta u internacionalni standard IDF 25A/1956, 1957, kao referencijska metoda. Kako ova metoda, iako točna, nije praktična za rutinski rad određivanja količine masti u velikom broju uzoraka mlijeka, preporučena je za te svrhe Gerberova metoda (ISO/TC 34/SC 5 WG 1). Ova metoda, razrađena na osnovu empirijskih iskustava, uvjetuje donekle netočnost rezultata. Kod volumskog mjerenja količine mliječne masti, što je slučaj kod Gerberove metode, dolazi do odstupanja rezultata, od onih dobivenih ekstrakcijskom metodom. Do pomenutih odstupanja dolazi s obzirom na različitu gustoću i različiti sastav mliječne masti, u zavisnosti od ljetnjeg doba, krmiva itd. Pored toga, mast u butirometru nije sasvim identična s mašću mlijeka zbog utjecaja sumporne kiseline, koja ju djelimično razgrađuje. Jedan njezin dio prelazi u mliječni serum, dok na njegovo mjesto dolazi amilni alkohol (Roeder 1952). Kod uzoraka mlijeka s više od 2% masti dobiva se zbog toga po klasičnoj Gerberovoj metodi više rezultate, nego s referencijskom metodom. Pošto je Gerberova metoda jednostavnija i jeftinija i u praksi uhodana, primljena je, unatoč nedostataka u mnoge nacionalne standarde (npr. njemački ME/1963, Mengebier 1969), ali uz modifikacije, koje uvjetuju smanjenje pomenutih odstupanja rezultata. Ove modifikacije postupka mogu se postići na više načina (izmjenom skale butirometra, upotrebom korekcijskog faktora, tretiranjem očitnog rezultata kao 1 g masti/100 ml mlijeka), ali se većina zemalja odlučila za izmjenu volumena pipete, odnosno za manju količinu mlijeka u butirometru. Konrad 1962, navodi u vezi s navedenim slijedeće podatke: Holandija 10.77 ml, Irska 10.8 ± 0.03 ml, Velika Britanija 10.94 ± 0.03 ml, Norveška 10.969 ± 0.025 ml itd. Većina zemalja odlučila se za izmjenu volumena pipeta od dosadašnjih 11 ml na 10.75 ml (Zapadna Njemačka, NDR, Poljska, Prijedlog Internacionalnog standarda, itd.) i to već prije nekoliko godina. U literaturi može se naći u vezi s navedenim promjenama različite nalaze i mišljenja (Schmidt 1964, 1965, Konrad, Zühlsdorf 1962, Neitzke, Panskus 1964, Hostetler, Hänni 1947, Pien 1960, Slanovec 1965), no u krajnjoj liniji svi se autori slažu, da se izmijenjenim postupkom Gerberove metode približavamo realnijim rezultatima. Kod dosadašnje upotrebe 11 mililitarske pipete računamo zbog viših rezultata, koje nam ova daje u odnosu na referencijsku metodu, kod običnog raspona masti u mlijeku, s imaginarnim masnim jedinicama. Analizirano mlijeko iskazuje dakle prema klasičnoj Gerberovoj metodi mast, koje u stvari u mlijeku nema. Upotreba 10.75 ml pipete uvjetuje međutim rezultate, bliže rezultatima referencijske metode i to, kako navode Neitzke i Panskus 1964: kod mlijeka sa 2.01 do 3.86% masti prosječni rezultati su niži samo za 0.03 do 0.01%, kod mlijeka sa 3.87 do 4.48% masti prosječni rezultati identični su, dok su kod mlijeka sa 4.49 do 6.35% masti prosječni rezultati analiza za 0.01 do 0.03% viši. Prema sadašnjim normama dozvoljavaju se odstupanja u granicama $\pm 0.05\%$. Upotrebom 10.75 ml pipete pogreška se dakle smanjuje.

Program našeg rada bio je ograničen materijalnim sredstvima tako, da nije obuhvatio sve momente u kontroli, koje utječu na točnost analize. Pored toga su iz literature poznate veličine pogrešaka, koje se mogu pojaviti u pojedinim fazama rada, pa smo se zbog navedenog ograničili samo na bitne momente. Kako bi provjerili rezultate tuđih autora u našim uvjetima, određivali smo komparativno mast u mlijeku klasičnom i modificiranom Gerberovom metodom, u sirovom miješanom mlijeku. Analize su vršene točno prema propisima pojedinih metoda (Roeder 1954, Mengebier 1969) i to u slijedećim pravcima:

- 1) reprodukcija rezultata određivanja % masti kod klasične Gerberove metode (11 ml mlijeka);
- 2) reprodukcija rezultata određivanja % masti kod modificirane Gerberove metode (10.75 ml mlijeka);
- 3) saglasnost rezultata dobivenih s pomoću oba navedena postupka;
- 4) utjecaj upotrebe različitih butirometara na rezultat analiza.

Reprodukciju rezultata odredili smo na osnovu rezultata analiza, dobivenih s baždarenim Gerberovim butirometrima i doziranjem 11 ml odnosno 10.75 ml mlijeka. Postotak masti određivali smo za svaki postupak u 18 navrata u istom uzorku mlijeka. Točnost metode (reprodukciju pojedinih određivanja) označavaju apsolutna i relativna standardna devijacija, koje su prikazane u tablici 1.

TABLICA 1

Reprodukcija rezultata

	G e r b e r	
	11 ml mlijeka	10.75 ml mlijeka
n	18	18
Σx	53.47	52.16
Σd	0.80	0.33
Σd^2	0.0786	0.0199
\bar{x}	2.97	2.89
$S_{aps.}$	± 0.067	± 0.034
$S_{rel.}$	2.25%	1.18%

Iz uspoređenja prikazanih apsolutnih i relativnih standardnih devijacija za postupak sa 11 ml mlijeka ($S_{aps.} = \pm 0.067$ i $S_{rel.} = 2.25\%$) i za postupak sa 10.75 ml mlijeka ($S_{aps.} = \pm 0.034$, $S_{rel.} = 1.18\%$) može se zaključiti, da je točnost dobivenih rezultata bolja kod modificiranog postupka. Literatura navodi kao najvišu dozvoljenu pogrešku (odstupanje) kod paralelnih određivanja 0.1% masti (Mengebier 1969).

Saglasnost rezultata dobivenih po klasičnom i modificiranom Gerberovom postupku proučavali smo u dva navrata. U prvu seriju pokusa uključeno je ukupno 60 uzoraka mlijeka sa 3.1 do 4.2‰ (odnosno 3.0 do 4.15‰) masti, u kojima se paralelno određivala mast sa oba postupka. Iz rezultata može se zaključiti, da smo sa 11 mililitarskom pipetom utvrdili prosječno 3.65‰ masti, dok sa 10.75 ml pipetom u istim uzorcima prosječno samo 3.58‰ masti. Razlike su iznosile od 0.03 do 0.12‰ ili prosječno — 0.07‰ masti, u korist modificiranog postupka, dok je iznosila standardna devijacija razlika $S_d = 0.074\%$.

TABLICA 2

Red. br.	% masti		Red. br.	% masti	
	Postupak sa			Postupak sa	
	11 ml	10.75 ml		11 ml	10.75 ml
1	3.29	3.15	26	3.70	3.59
2	3.30	3.15	27	3.70	3.55
3	3.50	3.35	28	3.90	3.59
4	3.45	3.28	29	3.72	3.60
5	3.72	3.70	30	3.75	3.65
6	3.69	3.50	31	3.60	3.50
7	3.60	3.50	32	3.59	3.48
8	3.55	3.58	33	3.95	3.85
9	3.59	3.40	34	3.95	3.85
10	3.60	3.40	35	3.70	3.60
11	3.71	3.49	36	3.70	3.60
12	3.79	3.40	37	3.70	3.60
13	3.60	3.50	38	3.70	3.58
14	3.55	3.48	39	3.82	3.72
15	3.72	3.65	40	3.80	3.72
16	3.70	3.60	41	3.85	3.70
17	3.82	3.68	42	3.85	3.78
18	3.77	3.62	43	4.42	4.28
19	3.75	3.65	44	4.40	4.28
20	3.70	3.62	45	3.68	3.60
21	3.59	3.45	46	3.70	3.65
22	3.59	3.48	47	3.70	3.60
23	3.95	3.85	48	3.65	3.60
24	3.90	3.82	49	4.35	4.20
25	3.69	3.60	50	4.30	4.18
n				50	50
Σx				187.30	181.25
$\Sigma d/n$					0.12
S_d					0.064
\bar{x}				3.746	3.625

U drugu seriju analiza uključeno je 50 uzoraka mlijeka. Statistički obrađeni rezultati pokazuju i tu, da se sa 11 mililitarskom pipetom dobivaju manje točni rezultati. Prosječno odstupanje bilo je u tom slučaju 0.12%, dok standardna devijacija razlika između rezultata oba postupka $S_d = 0.064$. Mast se kretala u toj seriji uzoraka od 3.29 do 4.42% (odnosno 3.15 do 4.28%). Uzimajući u obzir rezultate prve i druge serije pokusa, može se uočiti, da su zabilježena odstupanja od 0.07 do 0.12%, što se poklapa s rezultatima naprijed navedenih autora. U tablici 2 sakupljeni su osnovni podaci za drugu seriju analiza iz kojih se može navedene zaključke uočiti i direktno. Kompletni rezultati rada predloženi su u obliku teme Jugoslavenskom poljoprivredno šumarskom centru u Beogradu.

Iznijeto potvrđuje činjenicu, da je modificirana metoda po Gerberu sa 10.75 ml mlijeka točnija u pogledu reprodukcije rezultata, dok daje s druge strane realnije rezultate u odnosu na referencijsku metodu.

Utjecaj upotrebe različitih butirometara na rezultat analiza praćen je zbog činjenice, da može doći do određenih pogrešaka u rezultatu zbog razlika u volumenu butirometara. Kako je već navedeno, literatura i strani standardi dozvoljavaju mala odstupanja u rezultatima i to kod paralelnih određivanja do najviše 0.1% masti, dok u odnosu na referencijsku metodu Röse Gottlieb do najviše $\pm 0.05\%$ (Schulz 1965, Mengelbier 1969). Ova odstupanja moguće je postići uz pretpostavku, da su analize vršene s baždarenim priborom, odgovarajućim kemikalijama i uz normalni rad. Kod nas se upotrebljavaju butirometri najmanje 4 proizvođača, dok se baždarenju ne obraća dovoljna ili nikakova pažnja. Da bismo odredili utjecaj pomenutog pribora na rezultate analiza, ispitali smo 3 tipa butirometara za mlijeko i to Gerber-original (baždaren), INCO (poljski) i VEGA (domaći), s paralelnim određivanjem masti na ukupno 76 uzoraka mlijeka, koji su sadržavali od 2.8 do 4.3% masti. Kod uspoređivanja baždarenih butirometara za mlijeko s butirometrima INCO utvrdili smo kod očitavanja, odstupanja u granicama od -0.30 do $+0.20\%$ masti, dok su rezultati s butirometrima VEGA odstupali od -0.20 do $+0.20\%$ masti, u uspoređenju s baždarenim butirometrima. Ako se doda još činjenica, da se kod nas za doziranje mlijeka upotrebljavaju pipete od 11 i/ili 10.75 ml, koje u većini slučajeva isto tako nisu baždarene, da je kvaliteta sumporne kiseline i amilnog alkohola vrlo varijabilna i ako znamo, da može doći zbog netočnog rada (0.06 do 0.13%), nebaždarenog pribora (0.25%) i neodgovarajućih kemikalija (0.02 do 0.03%) do pogrešaka, koje iznose otprilike 0.13 do 0.21% masti, onda je svaki komentar suvišan. Iz literaturnih podataka može se vidjeti, da navedenim pogreškama u najvećoj mjeri pridonosi nebaždareni pribor, dok je pogreška zbog neodgovarajuće temperature uzorka relativno malena i to za svakih 5°C samo 0.01 do 0.015 ml masti. Samo uz standardom propisani postupak, baždareni pribor i odgovarajuće kemikalije, mogu se postići rezultati, koji u odnosu na referencijsku metodu odgovaraju u propisanim granicama.

Kod nas je Pravilnikom o kvaliteti mlijeka propisano određivanje masti po Gerberu, a dozvoljava se i upotreba Milko Testera. U dubioznim slučajevima važi rezultat po Gerberu. Možda bi se i o tome moglo diskutirati. Dalje, Pravilnik 1964, 1970 ne navodi točni postupak izvođenja Gerberove metode (pipeta od 11 ml ili od 10.75 ml) a isto tako ne propisuje baždareni pribor, pa

se mogu naši laboratoriji služiti bilo kojom modifikacijom. »Standardna« metoda u stvari nije standardna i dovodi do razlika u rezultatima analiza izvedenih u istom ili u različitim laboratorijima, a i do nesuglasica koje bi se moglo i moralo izbjeći uvođenjem egzaktno propisanog postupka.

Rezultati istraživanja stranih autora, usvojeni nacionalni standardi drugih zemalja, prijedlog međunarodne standardizacijske komisije, a na kraju i rezultati naših istraživanja dozvoljavaju tvrdnju, da je kod Gerberove metode opravdani prijelaz od doziranja 11 ml mlijeka na doziranje 10.75 ml, dakle na modificiranu Gerberovu metodu, ali uz točno propisane uvjete.

Literatura:

- FAO/WHO (1947): Code of Principles Concerning Milk and Milk Products, 1966, 1968, Hostetler, H., Hänni, H. Mitt. Leb. Hyg. **38**, 354.
- Konrad, H., Zühlsdorf, M. (1962): Erfahrungen mit der 10.75 ml Pipette bei Gerber Verfahren Milchwissenschaft, **17**, 4, 196—198.
- Mengebier, H. (1969): Chemische Einheitsmethoden und Internationale Standards für Milch und Milcherzeugnisse Th. Mann, Hildesheim.
- Neitzke, A., Panskus, K. (1964): Vorschläge zur Verbesserung der Betriebsübersichten in den Molkereien Deutsche Molk. Ztg., **85**, 52/53, 2108—2114.
- Pien, J. (1960): Le Lait, **22**, 211, 1942; **40**, 135.
- Pravilnik o kvalitetu mleka i mlečnih proizvoda, br. 1340/1, Beograd; dopune Službeni list **33**, 919.
- Roeder, G. (1954): Grundzüge der Milchwirtschaft und des Molkereiwesens Paul Parey, Berlin.
- Schmidt, P. (1964): Vor und Nachteile bei Anwendung der 10.75 ml Pipette Deutsche Molk. Ztg., **85**, 46, 1891—1892.
- Schmidt, P. (1965): Beitrag zur Frage der Einstellung von Kesselmilch auf einen bestimmten Fettgehalt bei Benützung 10.75 ml Pipette Deutsche Molk. Ztg., **86**, 4, 110—111.
- Schulz, E., Voss, E. (1965): Das Grosse Molkerei Lexikon Kempten
- Slanovec, T. (1965): Problemi u vezi s uvođenjem modificirane Gerberove metode sa 10.75 ml pipetom u praksu Mljekarstvo, **11/12**.

POREMEĆENA SEKRECIJA VIMENA*

Martin JAKOVAC

Veterinarski fakultet, Zagreb

Zlatko MAŠEK

»Zagrebačka mljekara, Zagreb

Osnovna vrijednost sirovog mlijeka čini njegov nepromijenjen prirodni sastav, da potječe iz zdravog vimena i da je što manje izloženo kontaktnoj infekciji. Normativi kvalitete sirovog mlijeka sasvim su dobro poznati, a isto tako i činjenice o nizu propisa i mjera da bi osigurali proizvodnju i preradu zdravog, kvalitetnog mlijeka. Pod poremećenom sekrecijom vimena podrazumijevamo sve promjene u sastavu mlijeka, a u vezi s bolestima krava ili vimena. Takovo mlijeko je nepodesno za kvalitetnu mljekarsku preradu. Poremećena sekrecija uzrokom je i ukupno smanjene proizvodnje mlijeka.

* Referat sa IX Seminara za mljekarsku industriju, održanog 10—12. II 1971., Tehnološki fakultet, Zagreb.