

## K problematike stanovenia obsahu tuku v mlieku a mliečnych produktoch

B. KRKOŠKOVÁ — E. ŠIMKOVÁ

Na stanovenie tukovosti mlieka sú v mliekárenskej praxi rozšírené butyrometrické metódy, ktoré boli vypracované a používajú sa v rozličných variantoch. Klasickou acidobutyrometrickou metódou je Gerberova metóda, ktorá je založená na odčítaní objemu tukového stĺpca získaného odstredením určitého množstva mlieka po pôsobení kyseliny sírovej — ako rozpúšťadla — na bielkovinovú zložku. Pridaním malého množstva amylalkoholu sa povrch tukového stĺpca ostro oddeľí. Podobné metódy, ktoré sa líšia používanými butyrometrami a niektorými malými zmenami v postupe stanovenia, sú Babcockova a Lindströмова metóda. Butyrometrickými metódami sa získa výsledok na princípe merania objemu tuku, preto podmienkou presnosti metódy je okrem iného aj dodržiavanie teploty, pri ktorej sa odčíta obsah tuku.

Na presnejšie stanovenie obsahu tuku v mlieku a mliečnych produktoch sa používajú gravimetrické metódy. Opäť existujú vo viacerých variantoch. Weilbulova metóda používa na rozpustenie bielkovín var vzorky s kyselinou chlorovodíkovou, tuk sa po odfiltrovaní extrahuje etyléterom. Röseho-Gottliebova metóda je založená na podobnom princípe. Bielkoviny sa rozpustia pôsobením 25 % amoniaku a po pridaní etanolu sa obsah tuku extrahuje postupne etyléterom a petroléterom. Pri obidvoch postupoch sa po oddestilovaní extrahovadiel vysušený tuk odváži. Röseho-Gottliebova metóda sa v medzinárodnej norme FIL/IDF uvádza ako odvolávacia metóda.

Obidva uvedené druhy metód sú pomalé a pomerne náročné. Podľa názorov niektorých autorov nie je ich reprodukovateľnosť dosť dobrá pri produktoch s vysokým obsahom tuku [1]. Porovnanie butyrometrického stanovenia s extrakčnými metódami stanovenia tuku v mlieku a smotane ukázalo, že pri butyrometrických metódach sa zaznamenali vyššie výsledky (v pokusoch sa použila Babcockova metóda). Rozdielnosť v získaných výsledkoch sa zväčšovala so stúpajúcim obsahom tuku vo vzorke [2].

V ostatnom čase rozvoj mliekárstva, najmä zavádzanie veľkoobjemových kontinuálnych liniek a hromadné vyšetrovanie mlieka v mliekárenských závodoch, nastolil naliehavú požiadavku rýchlych a presných metód na sledovanie hlavných zložiek mlieka (bielkovina, tuk, resp. laktóza). Odpoveďou na túto požiadavku bol vývoj automatických analyzátorov, ktoré pracujú na

základe nefelometrickej metódy stanovenia tuku, resp. infračervenej spektroskopie.

MILKO-TESTER fy Foss Electric pracuje na základe nefelometrickej metódy a používa sa na analýzy surového nehomogenizovaného mlieka. Mlieko sa pred stanovením homogenizuje, potom sa pridá roztok etyléndiamín-tetraacetátu na zriedenie vzorky a vylúčenie zákalu, ktorý by spôsobovali molekuly kazeínu. Potom roztok prechádza cez fotobunku a meria sa rozptyl svetla v roztoku, ktorý je proporcionálny obsahu tuku [3]. Na podobnom princípe pracujú AUTO-ANALYZER-y fy Technicon Instruments Corp. — na zriedení vzorku mlieka sa pôsobí kyselinou octovou s prídavkom povrchovo aktívnej látky.

Analýza mlieka aplikáciou infračervenej spektroskopie je založená na absorpcii infračerveného žiarenia pri špecifických vlnových dĺžkach. Karbo-nylové skupiny tukových molekúl absorbujú pri  $5723\text{ }\mu\text{m}$  peptidické väzby aminokyselín v molekulách bielkovín pri  $6465\text{ }\mu\text{m}$ , a OH— skupiny molekuly laktózy pri  $9610\text{ }\mu\text{m}$ . Na tomto princípe pracujú analyzátory IRMA.

Použitie automatických prístrojov urýchľuje analýzy a zvyšuje kapacitu analyzovaných vzoriek. Spoľahlivosť výsledkov závisí od presnosti metódy, kalibrácie oproti štandardnej metóde a spoľahlivosti jednotlivých typov analyzátorov. Jedinou kontrolnou metódou na zistenie presnej funkcie prístrojov je častá analýza kontrolnej vzorky referenčnou metódou. Automatickými prístrojmi sa nezískali spoľahlivé výsledky pri porušenom mlieku alebo mlieku s odlišným zložením, ako je normálne mlieko [4]. Rozdiel vo veľkosti tukových guľôčok v mlieku vyžaduje pri nefelometrických metódach pred vlastným stanovením tuku na základe merania zákalu, homogenizáciu vzorky, aby sa získalo jednotné rozdelenie veľkosti guľôčok. V našich pokusoch sme na stanovenie obsahu tuku v mlieku a niektorých mliečnych produktoch aplikovali jednoduchú metódu, ktorá sa pôvodne používala na simultánne stanovenie bielkovín a tuku v mlieku [5].

#### Použitá metodika a usporiadanie pokusov

Materiálom, na ktorý sme aplikovali nefelometrickú metódu stanovenia tuku, bolo egalizované a plnotučné mlieko a dva produkty s vyšším obsahom mliečného tuku, a to kyslá smotana lahôdková a smotana na šľahanie.

Na disociáciu a rozpustenie bielkovín i tuku vo vzorke sa použila kyselina octová; vzorka sa pred pôsobením kyseliny štyrikrát zriedila destilovanou vodou. Získal sa úplne jasný bezfarebný roztok. Na vyvolanie zákalu, ktorý je úmerný obsahu tuku, pridával sa roztok močoviny obsahujúci imidazol. Intenzita zákalu sa merala spektrálnym kolorimetrom Spekol, pri vlnovej dĺžke  $400\text{ nm}$ . Množstvo tuku sa určilo z kalibračnej krivky, ktorá sa zostrojila meraním zákalu modelového roztoku tuku v rozličných riedeniach [5]. Pri každom type vzorky sa štatisticky zhodnotili výsledky z 10 paralelných stanovení.

Na porovnanie sme pri dvoch z uvedených produktov, a to pri plnotučnom mlieku a smotane na šľahanie, stanovili obsah tuku aj referenčnou gravimetrickou metódou po extrakcii éterom. Tieto stanovenia sme robili v piatich paralelkách a výsledky sme štatisticky vyhodnotili.

Na porovnanie použitých metód sme vypočítali pre jednotlivé postupy smerodajnú odchýlku a variačný koeficient. Ako kritérium na hodnotenie korelácie medzi výsledkami získanými obidvoma postupmi sme použili metódu testovania rozdielu medzi priermi pre párové hodnoty [6].

Nefelometrická metóda, ktorú sme použili na stanovenie obsahu tuku, nevyžaduje homogenizáciu pred meraním zákalu, pretože dispergujúci efekt sa dosiahne kombináciou reagujúcich roztokov [5].

## Výsledky a diskusia

V tabuľke 1 sú výsledky nefelometrického stanovenia obsahu tuku vo všetkých vzorkách a ich štatistické vyhodnotenie.

V tabuľke 2 sú výsledky stanovenia tuku gravimetrickou metódou v plnotučnom mlieku a smotane na šľahanie a ich štatistické vyhodnotenie.

Tabuľka 1. Spektrofotometrické stanovenie tuku

Mlieko vz. č.	Obsah tuku (%)	Plno- tučné mlieko vz. č.	Obsah tuku (%)	Kyslá smotana vz. č.	Obsah tuku (%)	Smotana na šľahanie	Obsah tuku (%)
1	2,00	1	3,15	1	16,80	1	34,40
2	1,85	2	3,30	2	16,40	2	34,80
3	2,00	3	3,30	3	16,40	3	35,20
4	1,85	4	3,50	4	16,00	4	33,20
5	1,75	5	3,30	5	16,80	5	34,00
6	1,85	6	3,15	6	15,60	6	34,80
7	2,00	7	3,50	7	16,80	7	33,20
8	1,85	8	3,30	8	16,00	8	35,20
9	1,85	9	3,50	9	16,00	9	34,80
10	2,00	10	3,15	10	16,40	10	33,20
$\bar{x}$	1,90	$\bar{x}$	3,31	$\bar{x}$	16,32	$\bar{x}$	34,28
$S_x$	0,09	$S_x$	0,098	$S_x$	0,412	$S_x$	0,823
$V_k$	4,73	$V_k$	2,96	$V_k$	2,52	$V_k$	2,40

Tabuľka 2. Stanovenie tuku extrakciou éterom

Plnotučné mlieko vz. č.	Obsah tuku (%)	Smotana na šľahanie vz. č.	Obsah tuku (%)
1	3,41	1	33,01
2	3,39	2	32,93
3	3,37	3	32,98
4	3,38	4	33,01
5	3,39	5	33,01
$\bar{x}$	3,39	$\bar{x}$	32,98
$S_x$	0,015	$S_x$	0,036
$V_k$	0,44	$V_k$	0,11

Tabuľka 3. Výsledky určenia obsahu tuku dvoma metódami a ich vzájomné porovnanie

Vzorka	Analytická metóda	$\bar{x}$	$S_x$	$V_k$ (%)	$t_d$	$t_{0,05}$
Plnotučné mlieko	spektrofotometrická	3,31	0,098	2,96		
	extrakcia éterom	3,39	0,015	0,44	1,297	2,776
Smotana na šľahanie	spektrofotometrická	34,28	0,823	2,40		
	extrakcia éterom	32,98	0,036	0,11	3,756	

V tabuľke 3 sú výsledky stanovenia obsahu tuku dvoma metódami a ich vzájomné porovnanie.

Na hodnotné posúdenie výsledkov analýz je dôležité vedieť, akými chybami je zaťažená použitá metóda stanovenia, aby bolo možné dedukovať správnosť získaných hodnôt. Dôležitou veličinou pri výpočte chýb je reprodukovateľnosť, ktorá udáva, aká veľká môže byť náhodná chyba. Mierou týchto chýb je smerodajná odchýlka — je teda mierou presnosti, resp. reprodukovateľnosti metódy. Je konštantou postupu či metódy a predstavuje istý ukazovateľ kvality metódy.

Parameter  $\mu$  alebo skutočný obsah určovanej zložky, resp. rozdiel medzi skutočnou hodnotou  $\mu$  a pokusne nájdenou strednou hodnotou  $\bar{x}$  je mierou správnosti metódy.

Podľa výsledkov v tabuľke 1 sa pre nefelometrickú metódu stanovenia tuku zistili tieto smerodajné odchýlky: 0,09 % pre egalizované mlieko, 0,098 % pre plnotučné mlieko, 0,412 % pre kyslú smotanu lahôdkovú, 0,823 % pre smotanu na šľahanie.

Pri egalizovanom a plnotučnom mlieku, teda pri produktoch s nižším obsahom mliečného tuku sa zistili smerodajné odchýlky rádo ve rovnaké, pri produktoch s vyšším obsahom tuku sa tento ukazovateľ úmerne zväčšuje. Variačné koeficienty vykazujú opačný trend — jeho hodnota je najvyššia pri egalizovanom mlieku a klesá so stúpajúcim obsahom tuku.

V tabuľke 2 sú výsledky stanovenia tuku referenčnou metódou. Touto metódou sa zistili tieto smerodajné odchýlky: 0,015 % pre plnotučné mlieko, 0,036 % pre smotanu na šľahanie.

Variačné koeficienty vykazujú hodnoty 0,44 pre plnotučné mlieko a 0,11 pre smotanu na šľahanie.

Franzen [1] uvádza na stanovenie tuku v kondenzovanom mlieku s obsahom tuku 7,5 % Röseho-Gottliebovou metódou smerodajnú odchýlku 0,036 %. Pri porovnaní rozborov tej istej vzorky niekoľkými laboratóriami sa smerodajná odchýlka zväčšila na priemernú hodnotu 0,098 % a pohybuje sa v rozmedzí od 0,040 do 0,131 %. Z toho autor usudzuje na horšiu reprodukovateľnosť metódy pri tomto druhu mliečného výrobku a na získanie správneho výsledku vyžaduje 4 až 6 paralelných analýz.

Porovnaním výsledkov stanovenia tuku v plnotučnom mlieku a smotane na šľahanie obidvoma použitými metódami možno zistiť priemerné rozdiely v stanovenom obsahu tuku. Priemerné rozdiely medzi metódami, resp. výsledkami nimi získanými boli: 0,078 pri plnotučnom mlieku, 1,33 pri smotane na šľahanie.

V prípade plnotučného mlieka sa výsledky získané nefelometrickou metódou líšili iba v malej miere od výsledkov referenčnej metódy. Pri smotane na šľahanie sa zistil veľký rozdiel.

Vo švédskych a fínskych prácach sa uvádzajú na stanovenie tuku v mlieku Röseho-Gottliebovou metódou a automatickými analyzátormi (FPM, IRMA a MTA) štandardné odchýlky medzi postupmi: 0,11 (FPM); 0,14 (IRMA), 0,046 (MTA); 0,055 (IRMA) [4, 7].

V tabuľke 3 sú výsledky porovnania obidvoch metód testovaním rozdielu medzi priermi pre párové hodnoty. Podľa testu štatistickej významnosti rozdielu medzi priermi nie je v prípade plnotučného mlieka na 5 % hladine významnosti rozdiel medzi metódami významný. V prípade smotany na šľahanie je rozdiel medzi metódami významný na 5 % hladine významnosti.

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že nefelometrickú metódu stanovenia mliečneho tuku možno ako rýchlu a pomerne nenáročnú metódu s dobrou presnosťou aplikovať na produkty s nižším obsahom tuku. V porovnaní s butyrometrickou metódou nie sú rozdiely v reprodukovateľnosti metódy; výsledky získané nefelometrickou metódou sú správnejšie v dôsledku menšieho zaťaženia subjektívnymi chybami (presné pipetovanie vzorky na stotinu mililitra a temperovanie na určenú teplotu pred odčítaním objemu tuku pri Gerberovej metóde).

Stanovenie tuku butyrometrickou metódou spravidla trvá 20 min. Pri nefelometrickej metóde možno získať výsledok za 15 min; časová náročnosť obidvoch metód je teda približne rovnaká.

Na stanovenie tuku Gerberovou metódou sa používa Gerberova odstredivka, ktorá okrem nárokov na priestor je jednoúčelovým laboratórnym zariadením. Spektrálny kolorimeter potrebný pre nefelometrickú metódu je univerzálnym obvyklým laboratórnym prístrojom s mnohostranným použitím.

Acidobutyrometrická Gerberova i nefelometrická metóda poskytujú orientačné výsledky a výhodne sa môžu použiť v prevádzkových podmienkach na operatívnu kontrolu. Na získanie správnych výsledkov a v prípade analýz arbitrážnych vzoriek treba použiť vážkovú metódu podľa ČSN 57 0530.

## Súhrn

Na rýchle stanovenie obsahu tuku v mlieku a niektorých mliečnych produktoch sa aplikovala nefelometrická metóda. Použitím tejto metódy sa zistil obsah tuku v egalizovanom a plnotučnom mlieku, v kyslej smotane a smotane na šľahanie. Metóda sa štatisticky zhodnotila a zistili sa rozdiely v porovnaní s referenčnou metódou testovaním rozdielu medzi priermi pre párové hodnoty.

## Literatúra

- [1] FRANZEN, K.: Lebensmittelchemie und ger. Chemie 28, 1974, s. 139.
- [2] PACKARD, V. S. a spol.: J. Milk Food Technol., 36, 1973, s. 523.
- [3] Official Methods of Analysis AOAC. 12. vyd. Washington 1975.
- [4] KYLÄ—SIUROLA, A. L., ANTILA, V.: XIXth Int. Dairy Congr. 1974; cit. z Oborový Bull. mlék. Prům., 1976, č. 3, s. 14.
- [5] NAKAI, S., ANH CHI LE: J. Dairy Sci., 53, 1970, s. 276.
- [6] ZITKO, V.: Matematické metody v potravinářství. Bratislava, SVŠT 1963.
- [7] JOOST, K., RIEGO, J.: XIXth Int. Dairy Congr. 1974; cit. z Oborový Bull. mlék. Prům., 1976, č. 3, s. 12.

Кркошкова, Б. — Шимкова, Е.

К проблематике быстрого определения содержания жира в молоке  
и молочных продуктах

### Выводы

Для быстрого определения содержания жира в молоке а некоторых молочных продуктах был применен нефелометрический метод. Применением этого метода было установлено содержание жира в молоке со содержанием 2 % и 3,5 %, в сметане и в сливках. Метод был статистически оценен и были выяснены разницы по сравнению с сравнительным методом.

Krkošková, B., Šimková, E.

To problems of quick statement of fat content in milk and milk products

### Summary

To quick statement of fat content in milk and some milk products nefelometric method was applied. Using this method fat content in trim and full-fat milk, in sour cream and whipped cream was found out. The method was statistically evaluated and differences in comparison with reference method testing difference between averages for coupled values were found out.