



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Млекарство - практикум



Млекарство - практикум

Доц. др Ксенија Чобановић

Доц. др Ксенија Чобановић



МЛЕКАРСТВО

ПРАКТИКУМ

Доц. др Ксенија Чобановић



ПОЉОПРИВРЕДНИ
ФАКУЛТЕТ
УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

НОВИ САД, 2023.

ЕДИЦИЈА ПОМОЋНИ УЏБЕНИК

Оснивач и издавач едиције
Универзитет у Новом Саду

Пољопривредни факултет Нови Сад
Трг Доситеја Обрадовића 8, Нови Сад

Година оснивања 1954.

Главни и одговорни уредник едиције

Др Недељко Тица, редовни професор
Декан Пољопривредног факултета

Чланови Комисије за издавачку делатност

Проф. др Бранислав Влаховић, председник
Проф. др Ивана Давидов, члан
Доц. др Дејан Беуковић, члан
Доц. др Ксенија Мачкић, члан

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотека Матице српске, Нови Сад

ЧОБАНОВИЋ, Ксенија 1971-

Млекарство - Практикум / Чобановић Ксенија - Нови Сад : Пољопривредни
факултет, 2023 (Нови Сад). - 160 стр. : илустр. ; 30 см. - (Едиција Помоћни уџбеник)

Тираж 20. – Библиографија

ISBN 978-86-7520-574-6

а) Интензивна производња у аквакултури – Практикум
COBISS.SR-ID

Аутор

Др Ксенија Чобановић, доцент

Главни и одговорни уредник

Др Недељко Тица, редовни професор
Декан Пољопривредног факултета

Уредник

Доц. др Дејан Беуковић
Директор Департмана за сточарство
Пољопривредни факултет у Новом Саду

Технички уредник

Др Ксенија Чобановић, доцент

Рецензенти:

Др Денис Кучевић, редовни професор
Пољопривредни факултет, Нови Сад

Др Марија Пајић, ванредни професор
Пољопривредни факултет, Нови Сад

Издавач

Универзитет у Новом Саду,
Пољопривредни факултет Нови Сад

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач.

Штампа: Штампарија "ЕПОХА ДОО", Пожега

Штампање одобрила:

Комисија за издавачку делатност, Пољопривредни факултет, Нови Сад

Тираж: 20

Место и год. штампања: Нови Сад, 2023.

ПРЕДГОВОР

Практикум Млекарство написан је у складу са акредитованим наставним планом и програмом вежби из предмета Млекарство, који се изучава на основним академским студијама Анимална производња, Пољопривредног факултета у Новом Саду. Првенствено је намењен студентима смера Анимална производња, као додатна литература за испуњавање предиспитних и испитних обавеза на предмету Млекарство. Практикум могу да користе и студенти других студијских програма у оквиру којих се слушају предмети који обрађују проблематику контроле млека и производа од млека.

У практикуму су у оквиру поглавља приказане методе: узорковања и одређивања хемијског састава млека и производа од млека, одређивања физичких и физичко-хемијских особина млека, као и доказивања средстава за конзервисање и фалсификовање млека, утврђивања хигијенског квалитета млека и сензорне оцене производа од млека. У посебном поглављу дат је преглед вежби које студенти самостално врше у лабораторијским условима. На крају се налазе питања за проверу знања.

Поред метода које су предвиђене наставним планом и програмом у Практикуму су приказане и друге методе контроле квалитета млека и производа од млека које су признате као референтне или стандардне методе. Посебно су приказане инструменталне методе које имају велику примену у анализи сировог млека.

Захваљујем се свима који су својим учешћем, на било који начин, допринели изради овог практикума. Своју посебну захвалност изражавам рецензентима Проф. др Марији Пајић и Проф. др Денису Кучевићу који су својим драгоценим сугестијама допринели да практикум добије свој коначан изглед.

А у т о р

САДРЖАЈ

ПОГЛАВЉЕ I	1
1. УПУТСТВО ЗА РАД У МЛЕКАРСКОЈ ЛАБОРАТОРИЈИ	2
2. КВАЛИТЕТ СИРОВОГ МЛЕКА.....	4
2.1. Дефиниција млека	4
2.2. Параметри квалитета млека.....	6
2.3. Утврђивање цене млека.....	8
ПОГЛАВЉЕ II	9
3. УЗОРКОВАЊЕ МЛЕКА И ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА.....	10
3.1. УЗОРКОВАЊЕ СИРОВОГ МЛЕКА.....	11
3.2. УЗОРКОВАЊЕ ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА.....	25
ПОГЛАВЉЕ III.....	45
4. ПРИПРЕМА УЗОРАКА МЛЕКА И ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА ПРЕ АНАЛИЗЕ	46
4.1. Припремање узорка млека	46
4.2. Припремање узорака киселог млека и јогурта	46
4.3. Припремање узорка згуснутог млека.....	47
4.4. Припремање узорака млека у праху.....	47
4.5. Припремање узорка павлаке.....	48
4.6. Припремање узорака сира.....	48
4.7. Припремање узорака маслаца.....	48
4.8. Припремање узорака сладоледа	48
5. ОДРЕЂИВАЊЕ СУВЕ МАТЕРИЈЕ.....	49
5.1. Одређивање суве материје млека.....	49
5.2. Одређивање СМ у киселом млеку и јогурту.....	52
5.3. Одређивање воде у млеку у праху.....	52
5.4. Одређивање воде у сиру методом сушења	53
5.5. Одређивање воде у маслацу.....	54
6. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА МЛЕЧНЕ МАСТИ.....	56
6.1. Одређивање садржаја масти у млеку	56
6.2. Одређивање садржаја млечне масти код ферментисаних производа од млека	62
6.3. Одређивање садржаја млечне масти код павлаке.....	63
6.4. Одређивање садржаја млечне масти код сирева.....	64
6.5. Одређивање садржаја млечне масти у маслацу.....	66

7. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА ПРОТЕИНА У МЛЕКУ	68
7.1. Одређивање укупног азота методом по Кјелдалу	69
7.2. Модификован метод по Кјелдалу	72
7.3. Одређивање садржаја казеина у млеку.....	73
7.4. Одређивање садржаја неказеинског азота у млеку.....	75
7.5. Одређивање садржаја непротеинског азота у млеку	76
7.6. Одређивање садржаја протеина, казеина и урее у млеку инструменталним методама 77	
8. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА ЛАКТОЗЕ У МЛЕКУ	78
8.1. Одређивање садржаја лактозе титриметријски.....	78
8.2. Одређивање садржаја лактозе гравиметријски.....	81
9. ОДРЕЂИВАЊЕ ПЕПЕЛА	82
10. ПРИМЕНА ИНСТРУМЕНТАЛНИХ МЕТОДА У АНАЛИЗИ МЛЕКА.....	84
10.1. Турбидиметрија.....	85
10.2. Апсорпционе методе спектралне анализе	86
ПОГЛАВЉЕ IV	88
11. ОДРЕЂИВАЊЕ КИСЕЛОСТИ МЛЕКА	89
11.1. ТИТРАЦИОНЕ МЕТОДЕ ОДРЕЂИВАЊА КИСЕЛОСТИ МЛЕКА.....	90
11.2. БРЗЕ МЕТОДЕ ОДРЕЂИВАЊА КИСЕЛОСТИ МЛЕКА.....	95
11.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНЕ КИСЕЛОСТИ	100
12. ОДРЕЂИВАЊЕ ТАЧКЕ МРЖЊЕЊА МЛЕКА.....	101
12.1. Принцип рада криоскопа.....	101
13. ОДРЕЂИВАЊЕ ГУСТИНЕ И СПЕЦИФИЧНЕ ТЕЖИНЕ МЛЕКА	105
13.1. Густина млека.....	105
13.2. Релативна запреминска маса- Специфична тежина	106
14. ОДРЕЂИВАЊЕ ГРУБЕ НЕЧИСТОЋЕ У МЛЕКУ	109
15. ДОКАЗИВАЊЕ СРЕДСТАВА ЗА КОНЗЕРВИСАЊЕ И ФАЛСИФИКОВАЊЕ МЛЕКА 111	
15.1. Средства за конзервисање млека	111
15.2. Доказивање средстава за фалсификовање млека.....	114
16. КОНТРОЛА ПАСТЕРИЗАЦИЈЕ	116
16.1. Доказивање алкалне фосфатазе	116
16.2. Одређивање пероксидазе.....	120
ПОГЛАВЉЕ V	121
17. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНОГ БРОЈА МИКРООРГАНИЗАМА У МЛЕКУ.....	122

17.1. Директан метод одређивање укупног броја бактерија у млеку по <i>Bred</i> -у.....	122
17.2. Одређивање броја микроорганизама засејавањем на хранљиву подлогу.....	124
17.3. Метода проточне цитометрије.....	127
17.4. Редуктазна проба.....	129
18. ДОКАЗИВАЊЕ ИНХИБИТОРНИХ МАТЕРИЈА У МЛЕКУ.....	131
18.1. Доказивање резидуа антибиотика у млеку.....	131
18.2. Био тест.....	134
19. ОДРЕЂИВАЊЕ БРОЈА СОМАТСКИХ ЋЕЛИЈА У МЛЕКУ.....	135
19.1. Флуоро-опто-електронска метода.....	135
19.2. Калифорнија маститис тест (СМТ).....	137
ПОГЛАВЉЕ VI.....	138
20. Сензорна оцена производа од млека.....	139
ПОГЛАВЉЕ VII.....	141
21. АНАЛИЗА УЗОРАКА СИРОВОГ МЛЕКА У ЛАБОРАТОРИЈИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ КВАЛИТЕТА МЛЕКА.....	142
21.1. Одређивање титрационе киселости млека.....	142
21.2. Алкохолна проба.....	142
21.3. Одређивање тачке мржњења млека на инструменту криоскоп.....	142
21.4. Одређивање густине млека помоћу лактодензиметра.....	143
21.5. Рад на инструменту VactoScan FC.....	143
21.6. Рад на инструменту Combifoss FT.....	143
21.7. Одређивање резидуа антибиотика у млеку.....	143
22. ИЗРАДА ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА У ЛАБОРАТОРИЈСКИМ УСЛОВИМА.....	144
22.1. Производња јогурта / киселог млека.....	144
22.2. Производња кефира.....	145
22.3. Сиришно ферментациона проба.....	146
22.4. Производња сира.....	147
23. ЗАДАЦИ.....	150
ЛИТЕРАТУРА.....	155
СКРАЋЕНИЦЕ.....	158

ПОГЛАВЉЕ I

РАД У МЛЕКАРСКОЈ ЛАБОРАТОРИЈИ

КВАЛИТЕТ СИРОВОГ МЛЕКА



1. УПУТСТВО ЗА РАД У МЛЕКАРСКОЈ ЛАБОРАТОРИЈИ

Раду у лабораторијама придаје се велика пажња јер је то главни извор података, који се користе у различитим областима (селекција, научно истраживачки рад, индустрија и др). У циљу личне заштите испитивача и студената, заштите имовине, извршења задатака из практичне наставе и добијања релевантних резултата анализа, потребно је да се студенти придржавају одређених правила при раду у млекарској лабораторији и вежбаоници.

Општа правила рада и мере предостожности

1. Јело, пиће и жвакаће гуме су забрањени у лабораторији;
2. Капуче, јакне и ташне оставити на местима предвиђеним за одлагање гардеробе;
3. Обавезно ношење белог мантила и према потреби заштитних рукавица;
4. Вода из лабораторијског посуђа и чесме у лабораторији није за пиће. Такође, за време рада се не смеју стављати у уста нестерилни предмети (пипете и сл).
5. Никада не пипетирати устима корозивне, лако испарљиве и отровне течности;
6. По правилу, никада не треба радити сам у лабораторији. Забрањено је вршити анализе које није одобрио предметни професор или асистент;
7. Пре почетка анализе млека потребно је проучити одговарајуће поглавље у доступном наставном материјалу. Практично извођење анализа млека повезати са теоријском наставом;
8. Пре почетка рада руке опрати топлом водом и сапуном;
9. Пре извођења анализа треба се упознати са мерама које треба предузети у случају опасности које могу настати у току рада. Треба знати место приручне апотеке, апарата за гашење пожара и најближи телефон;
10. У случају просипања хемикалија или повреде одмах се обратити асистенту или присутном техничком особљу лабораторије;
11. Приликом рада користити потребне количине хемикалија, одговарајући прибор и апарате;
12. Све изведене вежбе унети у свеску, јасно и прегледно, као и запажања до којих је студент самостално дошао. Из унетих података потребно је да се види назив вежбе, датум. Потребан материјал и прибор, изведени поступак, добијени резултати (уколико је могуће табеларни приказ);
13. По завршеном раду опрати коришћен лабораторијски прибор, а коришћене хемикалије и апарате уредно оставити на предвиђено место у лабораторији;
14. По завршетку рада, треба проверити да ли су искључени електрични уређаји и добро затворене чесме;
15. Пре напуштања лабораторије треба добро опрати руке сапуном и водом;
16. Из лабораторије се не сме ништа износити.

Основно лабораторијско посуђе и опрема

При вршењу различитих анализа млека, у Лабораторији за испитивање квалитета млека, користи се следеће лабораторијско посуђе и инструменти:

1. Лабораторијска чаша
2. Ерлен мајерова колба
3. Мензура
4. Стаклени левак
5. Шприц боца
6. Бирета
7. Пипета
8. Нагибна пипета по Кипу
9. Аналитичка вага
10. Посуда са поклопцем (од алуминијума, нерђајућег челика, никла)
11. Стаклени штапић
12. Ижарени песак
13. Лабораторијска сушница на 102 °C
14. Ексикатор
15. Водено купатило
16. Лактодензиметар
17. MilcoScan
18. Fossomatic
19. VactoScan
20. Меšalice
21. Delvo test



Слика 1.
Аналитичка вага



Слика 2.
Лабораторијска сушница



Слика 3.
Ексикатор

(<https://www.super-lab.com/>)

2. КВАЛИТЕТ СИРОВОГ МЛЕКА

Правилником о квалитету сировог млека (Сл. гласник РС 106/2017) прописани су услови у погледу квалитета које сирово млеко мора да испуњава приликом откупа, а такође и начин оцене квалитета након узорковања.

2.1. Дефиниција млека

Сирово млеко, у смислу Правилника (106/2017) јесте млеко добијено редовном, непрекидном и потпуном мужом здравих, правилно храњених музних грла, најкасније 30 дана пре партуса и најраније осам дана после партуса, које није загревано на температури вишој од 40 °С и без додавања или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека.

Значење неких термина из дефиниције млека:

Редовна мужа – Млеко се из епителних ћелија излучује у лумен алвеола, а затим одатле преко алвеоларних и све широканалића спушта се у млечну цистерну вимена. Када се млечна цистерна испуни млеком, као и већи каналићи, млеко испуњава алвеоларне шупљине и врши притисак на епителне ћелије које више нису способне да излучују тј. да врше секрецију млека. Краве се морају мусти редовно, да притисак млека на епителне ћелије не траје дуго и не доведе до оштећења епителних ћелија и запаљења вимена (маститиса), као и смањења производње млека.

Непрекидна мужа – представља нормалан поступак добијања млека без прекида муже, при ком се млеко од почетка до краја муже меша и ставља у промет. То је унето у дефиницију да би се спречила прекидна мужа, јер се састав млека током муже мења. Први млазеви млека имају најмањи садржај млечне масти (до 1%), док је он највећи у последњим млазевима (преко 12%). Несавесни произвођачи млека, који познају ову физиолошку законитост, предају први део помуженог млека, а други део који садржи више млечне масти остављају у домаћинству за сопствене потребе.

Потпуна мужа – подразумева измузање комплетне количине млека, које се може измусти, из вимена да би се спречили различити поремећаји у лучењу млека. У вимену увек остаје нешто млека које није измузено поступком муже. Један део тог млека је тзв. резидуално млеко, које се не може измусти применом редовне рутине муже, а друго је млеко које се може измусти, али се то не чини услед недовољног ангажовања музача. У огледима је утврђено да око 3% од укупне количине произведеног млека остаје у вимену, што доводи касније до бржег пуњења вимена између две муже и смањења количине произведеног млека, а такође се смањује и садржај млечне масти јер последњи млазеви млека имају највећи садржај млечне масти.

Здрава музна грла – болести, пре свега маститис, доводе до смањења количине произведеног млека, а такође и до промене састава и технолошких особина млека. Правилником (106/2017) је предвиђено да се сирово млеко откупљује само ако је добијено од здравих и обележених музних грла. Здрава музна

грла јесу грла која су према програму мера здравствене заштите животиња испитана, и то:

1) говеда – на бруцелозу, ензоотску леукозу и туберкулозу, ако су вакцинисана против заразних болести животиња утврђених посебним прописом и ако је прошло захтевано време каренце од дана вакцинације, да је спроведен програм сузбијања инфективног маститиса;

2) овце и козе – на бруцелозу, ако су вакцинисане против заразних болести животиња утврђених посебним прописом и ако је прошло захтевано време каренце од дана вакцинације, да је спроведен програм сузбијања инфективног маститиса.

Правилно храњена музна грла – Количина и квалитет хране веома утичу на количину, састав и особине млека. У циљу одржавања нормалног метаболизма и здравља, а уједно за постизање високе производње млека потребно је обезбедити одговарајући однос између кабастих хранива и концентрата, који ће бити физиолошки повољан и економски оправдан.

Најкасније 30 дана пре партуса и најраније осам дана после партуса – у овом периоду секрет који лучи млечна жлезда значајно се разликује по свом саставу и особинама у односу на млеко које се лучи током осталог периода лактације. Период засушења је веома значајан за регенерацију вимена, а пре свега секреторних ћелија. У периоду засушивања у млеку се повећава садржај млечне масти и протеина, а смањује садржај лактозе и киселост. Млеко добија непријатан благо – слан укус. Након партуса млечна жлезда лучи колострум, који се по својим карактеристикама значајно разликује од млека. Колострум има вискозну конзистенцију, сладуњав укус и згрушава се при загревању. За производњу сирева млеко се може користити тек после 14 дана од партуса.

Без додавања или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека – несавесни произвођачи смањују квалитет млека додавањем воде или одузимањем млечне масти.

Сирово млеко према врсти домаћих животиња од којих је добијено може бити:

- 1) кравље сирово млеко;
- 2) овчије сирово млеко;
- 3) козије сирово млеко;
- 4) сирово млеко осталих домаћих животиња (кобиле, магареће, бивоље).

Под појмом „млеко“ подразумева се увек кравље млеко. За млека других врста, мора се назначити врста животиње од које потиче.

2.2. Параметри квалитета млека

Квалитет млека дефинисан је његовим сензорним особинама, хемијским саставом, физичким и физичко-хемијским особинама и хигијенским квалитетом.

- Сензорне особине млека (боја, мирис, укус);
- Хемијски састав млека (маст, протеин, лактоза, сува материја, вода, минералне материје и др.);
- Физичка и физичко-хемијска својства млека (киселост, густина, тачка мржњења и др.);
- Хигијенски квалитет (број соматских ћелија, укупан број микроорганизама).

Правилником (106/2017) су прописани минимални услови квалитета за кравље, овчије и козије сирово млеко (Табела 1). Параметри квалитета сировог млека осталих домаћих животиња одређују се у складу са произвођачком спецификацијом или на основу научних и стручних сазнања.

Табела 1. Минимални услови квалитета крављег, овчијег и козијег млека

Врста млека	Кравље	Овчије	Козије
Млечна маст	најмање 3,2%	најмање 4,0%	најмање 2,8%
Протеин	најмање 3,0%	најмање 3,8%	најмање 2,5%
Сува материја без масти	најмање 8,5%	најмање 9,5%	најмање 7,5%
Густина	1,028–1,034 g/cm ³ при температури од 20 °C	1,034–1,042 g/cm ³ при температури од 20 °C	1,024–1,040 g/cm ³ при температури од 20 °C
pH	6,5 – 6,7	6,5 – 6,8	6,5 – 6,8
Киселост (°SH)	6,6 – 6,8	8,0 – 12,0	6,5 – 8,0
Тачка мржњења	није виша од –0,515 °C	није виша од –0,560 °C	није виша од –0,540 °C
Алкохолна проба	Негативна са 72% етил алкохолом	/	/

Правилником (106/2017) је предвиђено да се у узорцима сировог млека, узетим директно код произвођача или на сабирном месту, два пута месечно одређује број микроорганизама и соматских ћелија. На основу укупног броја микроорганизама (CFU) и соматских ћелија, сирово млеко се разврстава на класе, табела 2.

Табела 2. Разврставање сировог млека на класе

Врста млека	Кравље	Овчије	Козије
I класа CFU/ml	До 100.000	До 1.500.000	
II класа CFU/ml	100.001 – 400.000	> 1.500.000	
III класа CFU/ml	> 400.000	/	
Соматске ћелије/ml све класе	До 400.000	Није дефинисано	

Поред наведених параметара квалитета, Правилником (106/2017) је дефинисано и да сирово млеко не може да садржи резидуе пестицида, метала, металоида и других штетних супстанци, као и резидуе хемиотерапеутика, анаболика и других штетних материја, изнад максимално дозвољених количина, у складу са посебним прописима. Такође, сирово млеко не може да садржи механичке нечистоће, додату воду, као и промене настале као последица обољења вимена – маститиса.

2.3. Утврђивање цене млека

На основу хемијског састава, хигијенског квалитета и присуства резидуа антибиотика, утврђује се вредност млека. Циљ вредновања млека је да се унапреди производња и гарантује произвођачу одговарајућа цена за његов производ.

Цена млека се добија на основу садржаја млечне масти и протеина, уз усклађивање са класом на основу утврђеног броја микроорганизама и соматских ћелија.

Правилником (106/2017) предвиђена је динамика испитивања квалитета млека и разврставање на класе на основу укупног броја бактерија и соматских ћелија (Табела 2).

На основу појединачних резултата садржаја млечне масти и протеина добијених анализом, израчунава се за сваки месец просечна вредност преко аритметичке средине.

Просечан број микроорганизама израчунава се као геометријска средина на основу резултата из последња два месеца.

Из појединачних резултата последња три месеца израчунава, се преко геометријске средине, просечан број соматских ћелија.



ПОГЛАВЉЕ II

УЗОРКОВАЊЕ МЛЕКА И МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА



3. УЗОРКОВАЊЕ МЛЕКА И ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА

Правилно узорковање је од виталног значаја и захтева највећу пажњу при раду, како би резултати испитивања квалитета млека и производа од млека били валидни.

Узорак сировог млека или производа од млека треба да буде репрезентативан и да представља просек целокупне количине млека / производа од млека од које се узорак узима.

IDF (International Dairy Federation - Међународна млекарска федерација) је прописао стандарде (ISO 707) (ISO - International Organization for Standardization - Међународна организација за стандардизацију) по којима се врши правилно узимање узорка млека и производа од млека за хемијска, сензорна и микробиолошка испитивања. Међународним стандардима дата је спецификација метода, апарата и прибора који се користе при узимању узорка млека и производа од млека, процедуре за руковање, као и број узорка који треба узети из неке шарже или збирног паковања.

Везе са другим документима

У наведеним документима наведене су методе узимања узорка млека и производа од млека у различите сврхе.

- Правилник о квалитету сировог млека Службени гласник РС, 106/2017;
- SRPS EN ISO 707:2010 Млеко и производи од млека — Упутство за узимање узорка
- ICAR (2020) The global standard for livestock data - Section 12 – Guidelines for Milk Analysis
- Кучевић, Д., Тривуновић, С. (2012) Систем контроле млечности посредством овлашћене лабораторије. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.
- Катић, В., Зебић, Г. (2020) Водич за узимање узорка сировог млека. РС Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде, Дирекција за националне референтне лабораторије.
- Закон о безбедности хране. Сл. гласник РС, 41/2009 и 17/2019.
- Закона о сточарству. Сл. гласник РС, 41/2009, 93/2012 и 14/2016.
- Правилник о ветеринарско - санитарним условима, односно општим и посебним условима за хигијену хране животињског порекла, као и о условима хигијене хране животињског порекла (2014) Сл. гласник РС, 25/11. и 27/2014.

3.1. УЗОРКОВАЊЕ СИРОВОГ МЛЕКА

3.1.1. Дефиниције и скраћенице

Правилником (106/2017) прописан је начин и учесталост узимања узорака млека и дато је значење појединих употребљених израза:

1) *произвођач сировог млека* - јесте свако физичко лице, предузетник, односно правно лице, које поседује музна грла и предаје сирово млеко лицима са којима има уговор о откупу;

2) *откупљивач* - јесте правно лице, односно предузетник, које од произвођача сировог млека откупљује сирово млеко ради термичке обраде или прераде или ради продаје другим правним лицима, односно предузетницима, који млеко термички обрађују или прерађују у производе од млека;

3) *узоркивач* - јесте лице које је оспособљено за узимање узорака;

4) *узорак сировог млека* - јесте одређена количина сировог млека која по особинама и саставу представља репрезентативни узорак целокупне количине сировог млека из које је узет;

5) *сабирно односно откупно место* - (у даљем тексту: сабирно место) јесте просторија која је регистрована за сакупљање сировог млека од произвођача сировог млека са одређеног подручја;

б) *сабиралиште* - јесте објекат који је одобрен за сакупљање сировог млека од произвођача сировог млека са одређеног подручја;

7) *линија* – представља више откупних места на одређеном подручју, округу;

8) *млекомер* - уређај за мерење количине сировог млека;

9) *лактофриз* – уређај за хлађење млека,

10) *гајбице* – за складиштење и транспорт бочица за узорке млека.

3.1.2. Узимање узорака млека

Узорци млека могу се узимати за вршење:

- Сензорних (мирис, изглед, боја);
- Физичких (тачка мржњења, густина и др.);
- Хемијских (садржај млечне масти, протеина, лактозе, урее, суве материје и др.);
- Цитолошких (број соматских ћелија) и
- Микробиолошких анализа (број и врста микроорганизама).

У зависности од врсте анализе за коју се узорак узима зависи: број и количина узорка, могућност конзервације, дужина и начин складиштења, транспорт и др.

3.1.3. Места за узимање узорака млека

Зависно од разлога узорковања и сврхе у коју се користе резултати анализе, сирово млеко се може узорковати у/на:

1. Стаји – од сваког појединачног музног грла (индивидуални узорак млека од целокупне количине млека једне краве) или стадни узорак из лактофриза;
2. Сабирном месту – појединачно од сваког произвођача који доноси млеко на сабирно место или узорак сабирног места из лактофриза, служи за формирање цене млека на основу његовог квалитета;
3. Пријемној рампи млекаре – праћење квалитета млека пре пријема у млеку, оцењује се квалитет млека и његова подобност за прераду у поједине производе.

3.1.4. Врсте узорака

Разлози испитивања квалитета сировог млека могу бити различити, у зависности од потреба и циља коме ће служити добијени резултати, разликујемо следеће узорке:

- Селекцијски узорак (индивидуални узорак млека од једне краве) – узима се у оквиру редовне контроле млечности крава, прати се количина и квалитет млека, резултати се користе за селекцију и генетско унапређење музних грла;
- Узорак из лактофриза (стадни узорак / узорак сабирног места) – узима се за утврђивање цене млека на основу квалитета;
- Технолошки узорак – у циљу провере квалитета млека и избора за производњу производа од млека, односно за контролу рандмана искористивости млека;
- Здравствени аспекти – са здравственог аспекта сврха узимања узорака млека је да се утврди здравствена исправност млека и отклоне узроци лошег квалитета млека;
- Саветодавна сврха узимања узорака – резултати испитивања узорака користе се у отклањању неправилности и недостатака у производњи млека.

3.1.5. Узорак сировог млека

Узорак млека је она количина млека која по свом саставу и својствима репрезентује целокупну количину млека из које је узета.

Шта се захтева од узорка?

- Да буде просечан – да репрезентује читаву количину млека из које се узорак узима;
- Да садржи довољну количину млека за анализу;
- Да се може идентификовати;
- Да има потребну трајност (не мења особине до момента испитивања);
- Да је обезбеђен адекватан транспорт узорака до лабораторије;
- Да се за анализу правилно припреми непосредно пре њеног извођења.

3.1.6. Узоркивач

У циљу добијања релевантних резултата анализе сировог млека, узорак млека мора бити репрезентативан, а велику одговорност за правилно узорковање има особа која врши узорковање сировог млека – узоркивач. Потребно је да:

- Узимање узорака врши особа са потребним искуством у том раду;
- Особа која врши узорковање мора бити овлашћена, здрава, добро обучена и независна;
- Узорковању могу присуствовати и представници фирме код које се узорковање одвија.

3.1.7. Опрема за узимање узорака

Пре почетка узорковања потребно је обезбедити одговарајућа техничка средства. За узорковање различитих намирница и сировина користи се различити прибор.

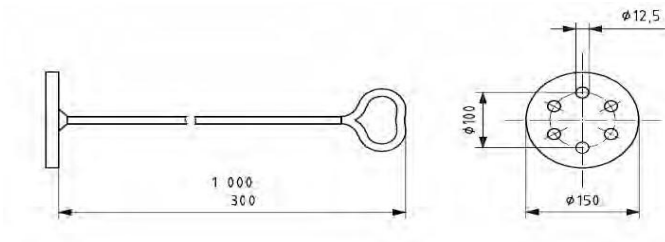
Сва опрема за узимање узорака сировог млека треба да буде од нерђајућег челика или другог материјала сличних карактеристика, довољно чврста да се не деформише при употреби, глатких површина, без пукотина и заобљених углова. Опрема за узорковање не сме да утиче на сензорна својства узетих узорака млека и не сме изазивати хемијске промене у узорцима.

Прибор за узимање узорака мора бити добро очишћен, опран, осушен, чист и стерилизован, уколико се врши узимање узорака за *микробиолошка испитивања*.

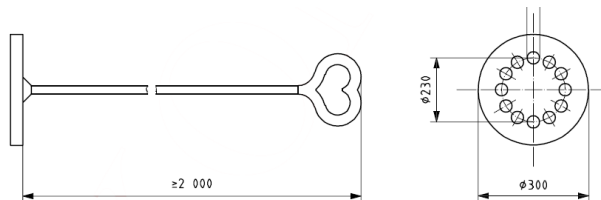
За узорковање сировог млека обично се користи следећи прибор:

1. Мешалица са перфорираном плочом, различитих димензија у зависности да ли је намењена мешању млека у кантама или лактофризу (слика 4).
2. Прибор за узорковање сировог млека према стандарду SRPS EN ISO 707:2010 (слика 5) или
3. Кутлача за узорковање млека, чија запремина не сме бити мања од 50 ml (слика 5), са дршком одговарајуће дужине како би било могуће узимање узорка млека на било којој дубини посуде за млеко.

Ручна мешалица

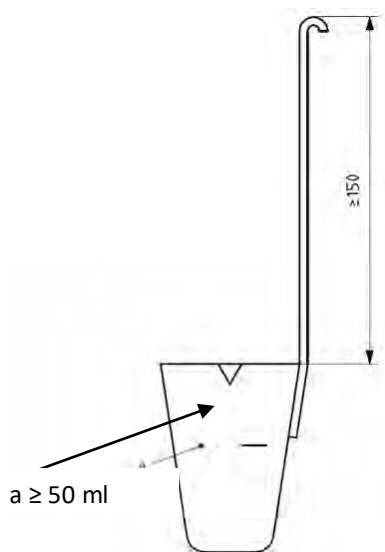


Ручна мешалица за мешање сировог млека у кантама



Ручна мешалица за мешање сировог млека у лактофризима

Слика 4. Прибор за мешање сировог млека према стандарду SRPS EN ISO 707:2010



Прибор за узорковање сировог млека према стандарду SRPS EN ISO 707:2010



Кутлача за узорковање која се може користити алтернативно у односу на стандард SRPS EN ISO 707:2010

Слика 5. Прибор за ручно узимање узорка млека



Слика 6. Прибор за узорковање млека
(<https://www.indiamart.com/velsem-technology/fat-snf-testing-equipment.html>)

У оквиру редовне контроле млечности користе се различити мерни уређаји (слика 7), који морају бити на одобреној важећој листи мерних инструмената коју потписује ICAR, који поред утврђивања количине произведеног млека омогућавају контролору да узме узорак млека, од сваког појединачног грла, који ће по свом саставу представљати целокупну количину млека из које је узорак узет.



Слика 7. Мерач млека – Вајкатор
(<https://www.muziliceshop.rs/shop/merac-mleka-za-krave/>)

3.1.8. Посуде за узимање узорака

Приликом избора одговарајућих посуда за складиштење и транспорт узорака сировог млека до лабораторије, мора се водити рачуна о њиховим следећим карактеристикама:

- Посуда за узорак млека и затварач треба да буду одговарајући за њихову намену (да се млеко може доставити до лабораторије без промена и губитка);
- Посуде за узорке и затварачи треба да буду од погодног материјала и такве конструкције да штите узорак и не изазивају промене сировог млека које би могле да утичу на резултат анализе;
- Подесни материјали су стакло, неки метали и неке врсте пластике;
- Пожељно да посуде буду од непрозирног материјала;
- Посуде за узимање узорака треба да буду чисте односно стерилне, ако се узорак узима за вршење микробиолошке анализе;
- Облик и капацитет посуде за узорак сировог млека зависи од врсте и методе анализа.



Слика 8. Пример бочица за узорковање сировог млека
(фото: аутор)

3.1.9. Техника узимања узорка сировог млека

Техника узимања узорка сировог млека зависи од природе узорка и врсте анализе. Узорак сировог млека може се узети:

- Појединачно из сваке четврти вимена – када се жели проверити здравствено стање грла;
- Из свих четврти / збирни узорак – (након завршене муже), најчешће селекцијски узорак;
- Из лактофриза на фарми - стадни узорак или
- Из лактофриза на сабиралишту / сабирном месту – узорак сабирног места.

Пре узимања узорка неопходно је извршити визуелни преглед сировог млека – сензорна контрола (изглед, боја, мирис, чистоћа, и др).

Ако су у сировом млеку уочљиве промене које су настале као последица обољења вимена и деловања различитих врста микроорганизама, узорковање и откуп таквог млека се не врши.

Под правилно узетим узорком сировог млека подразумева се узорак узет од здравих, правилно и редовно мужених музних грла (најкасније 30 дана пре партуса и најраније 8 дана после партуса) коме није ништа додато ни одузето и није загревано на температури до 40°C.

3.1.9.1. Узимање узорка млека у оквиру индивидуалне контроле млечности

Узорковање сировог млека, у оквиру редовне контроле млечности крава, у складу са смерницама ICAR-а, може се обављати А или Б методом. У нашој земљи, главним одгајивачким програмом је предвиђено коришћење АТ4 и БТ4 метода за контролу млечности, које подразумевају мерење количине млека само током вечерње или јутарње muže у контролном дану, а утврђена количина млека на мерењу и састојака млека у узорку се морају математички кориговати на референтну А методу. Контрола се врши наизменично, једног месеца ујутро, а наредног месеца увече. Контрола се спроводи тако да се прво измери помужена количина млека предвиђеним мерним инструментима, а затим се од укупне количине млека узима репрезентативни узорак (мин. 30 ml) ради одређивања садржаја састојака млека.

Валидност података контроле млечности се проверава анализом стадног узорка. Стадни узорак представља јединствен узорак целокупног узоркованог млека, за датог произвођача. Обрадом података у лабораторијском софтверу, на основу резултата испитивања и помужене количине млека, добија се прорачунат просек стада. Прорачунат просек се пореди са резултатима анализе стадног узорка. Одступања у поређењу већа од 0,5% за садржај млечне масти (%) указују на грешке у процесу узорковања и/или евидентирању помужене количине млека. Резултати овако обављене контроле, као и контроле за коју није спроведена анализа стадног узорка, се не могу сматрати валидним.

3.1.9.2. Узимање узорка млека за оцену квалитета сировог млека

Узимање узорака за утврђивање квалитета сировог млека обавља узоркивач непосредно код произвођача сировог млека или на сабирном месту, односно сабиралишту.

Узимање узорака врши се сваког месеца методом случајног избора, и то:

- 1) два узорка за утврђивање количине млечне масти;
- 2) два узорка за утврђивање количине протеина;
- 3) два узорка за утврђивање броја микроорганизама;
- 4) два узорка за утврђивање броја соматских ћелија;
- 5) један узорак за утврђивање тачке мржњења;
- 6) један узорак за утврђивање присуства резидуа.

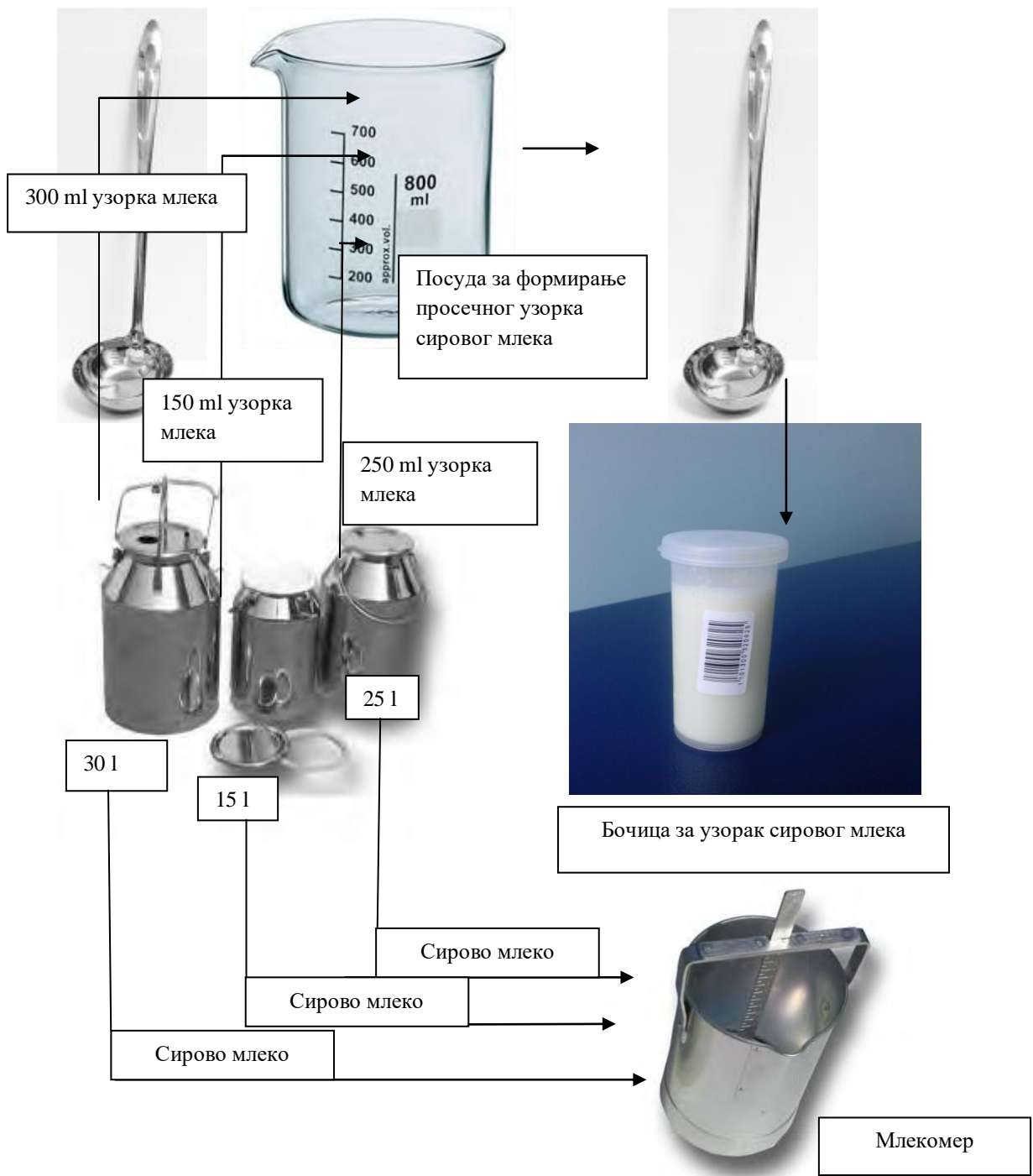
Поступку узимања узорака сировог млека присуствује произвођач сировог млека који о евентуалним неправилностима и недостацима поступка обавештава надлежног ветеринарског инспектора и овлашћену лабораторију.

Узимање узорка сировог млека на сабиралишту

У случају да се млеко једног произвођача налази у више различитих посуда потребно је формирати репрезентативан узорак млека, на следећи начин:

- Пре узорковања сировог млека врши се његов визуелни преглед;
- Узоркивач отвара сваку посуду у којој се чува сирово млеко, уједначава његов састав тако што прибором за узимање узорка меша сирово млеко од површине према дну посуде (полукружно) и обрнуто;
- Одређену количину сировог млека узоркивач узима из сваке посуде поштујући правило пропорционалности (потребна количина млека може се одмерити помоћу мензуре) и пребацује у посуду за формирање просечног узорка сировог млека, а произвођач сировог млека преосталу количину сировог млека сипа из посуде у млекомер за мерење количине сировог млека, а после мерења, сирово млеко се из млекомера сипа у расхладни уређај (лактофриз);
- Након припреме великог просечног узорка сировог млека, за датог произвођача, узорак се добро промеша и сипа у бочицу. Млеко се сипа у бочицу до наглашеног руба, а затим се на бочицу са узорком сировог млека појединог произвођача лепи бар код налепница са јединственом шифром тог произвођача.

Пример узимања просечног узорка сировог млека из више посуда приказан је на слици 9.



Слика 9. Пример узимања просечног узорка сировог млека из више посуда

Узимање узорка млека из лактофриза

Узорак сировог млека из лактофриза се узима код произвођача који имају расхладни уређај на свом газдинству. Уколико произвођач млека поседује више расхладних уређаја, узоркивач узима један узорак млека по принципу пропорционалности.

Такође и на сабирном месту се узима узорак из лактофриза, као просечан узорак сабирног места, односно сабиралишта. Просечан узорак сабирног места, јесте узорак чијом се контролом и резултатима лабораторијских испитивања обавља контрола рада узоркивача упоређујући:

- 1) биланс испорученог сировог млека свих произвођача сировог млека заједно у погледу свих састојака млека;
- 2) испитивање свих састојака сировог млека у узорку сабирног места односно сабиралишта;
- 3) обрачун разлика између укупно сакупљеног сировог млека и свих састојака испорученог сировог млека произвођача сировог млека.

Укупна количина и квалитет испорученог сировог млека свих произвођача сировог млека на једном сабирном месту, мора бити једнака испорученом млеку са тог сабирног места у погледу количине и свих састојака сировог млека.

Узимање узорка сировог млека из лактофриза, врши се следећим редоследом:

- 1) Након преузимања (откупа) млека од свих произвођача, из расхладног уређаја – лактофриза узима се узорак сабирног (откупног) места;
- 2) Пре самог узорковања потребно је осигурати да се сирово млеко у лактофризу мешало минимум 15 минута, како би се створили услови за узимање хомогеног узорка;
- 3) Након завршеног мешања приступа се отварању поклопаца лактофриза и узимању узорка сировог млека уз одговарајућу, чисту опрему. Како би се избегле микробиолошке контаминације, сирово млеко се не сме узорковати са славине лактофриза. У случају да возило намењено за транспорт сировог млека од лактофриза до млекаре, поседује одговарајућу опрему за узорковање сировог млека у току његовог пребацивања из лактофриза у цистерну транспортног возила, узорковање се врши уз помоћ одговарајуће опреме у складу са препорукама произвођача.



Слика 10. Млеко у лактофризу
(извор: <https://elektrotehnika.hr/rashladni-bazeni-za-mlijeko>)

3.1.10. Сипање млека у бочицу

За узимање узорака млека користи се наменска амбалажа - флашице за узорковање (са конзервансом) и одговарајуће гајбице за транспорт. Узоркивач пуни флашицу до назначеног места, тј. око 40 ml ($35 \text{ ml} \pm 5 \text{ ml}$) млека. Након пуњења, флашица се затвора и благим окретањем промешати садржај да би се конзерванс измешао са млеком.



Слика 11. Сипање млека у бочицу
(фото: аутор)

Сирово млеко се сипа у бочицу у количини од 40 ml, треба водити рачуна да та количина заузима најмање 1/2 бочице, а највише 3/4 бочице. Уколико је бочица напуњена до затварача не може добро да се измеша млеко са конзервансом у бочици, а током стајања долази до издвајања слоја млечне масти који може остати на поклопцу бочице и тада се не добија резултат који је репрезентативан за сирово млеко из ког је узет узорак. Уколико је садржај млека у бочици мањи од 1/2 та количина није довољна за лабораторијска испитивања.

Бочица са узорком сировог млека мора бити добро затворена тако да у току транспорта не дође до изливања узорка. Ако се то догоди, узорак не може представљати репрезентативни узорак целокупне количине сировог млека из које је узет. При затварању и отварању бочице потребно је пажљиво и уредно руковати затварачем бочице како би се избегла контаминација узорка млека микроорганизмима из околине (загађивање узорка).

Могу се применити 2 начина затварања односно отварања бочица:

- Затварач можемо обрнуто окренути и одложити на чисту површину и пажљиво након сипања узорка млека ухватити за ивицу и затворити бочицу,
- При отварању бочице произвођач може држати затварач за руб, док узоркивач сипа узорак млека, а затим пажљиво затворити бочицу, не додирујући унутрашњу површину затварача.

3.1.11. Обележавање и извештај

Обележавање узорка млека је неопходно у циљу њихове даље идентификације. За обележавање узорака сировог млека најбоље је користити бар-код етикете да би се идентификација узорака млека убрзала и аутоматизовала, а поступак анализе учинио транспарентним. Бар-код етикете су израђене као самолепљиве налепнице на којима је одштампан јединствени кодирани број који омогућава аутоматску идентификацију сваког појединачног узорка млека. Очитавање кодираних броја са етикете се спроводи помоћу ласерских читача.

Узоркивач треба да обележи сваку напуњену бочицу са узорком млека, бар-код налепницом. Налепницу треба залепити вертикално на бочицу, од дна према врху бочице. Обележене бочице са узорцима узоркивач ставља у гајбице и чува на температури од 1 до 6 °C.

Правилно залепљена
бар код налепница



Неправилно залепљена бар код налепница



Слика 12. Правилно и неправилно обележавање бочица бар-код етикетама
(фото: аутор)

У току узимања узорка сировог млека узоркивач попуњава потребну документацију и одлаже је у гајбицу заједно са бочицама са узорком.

3.1.12. Конзервисање узорака

Конзерванси се обично не додају узорцима намењеним за микробиолошка и сензорна испитивања. У циљу могућности чувања узорака у дужем временском

периоду (неколико дана), приликом узорковања може се користити хемијски конзерванс за конзервисање узорака млека (нпр. азидиол, бронопол и др).

Узорак сировог млека може се конзервисати уз одобрење лабораторије која врши испитивање, а додати конзерванс не сме утицати на резултате испитивања.

Узорци узети у оквиру редовне контроле млечности грла конзервишу се бронополом, а узорци за одређивање квалитета млека конзервишу се азидиолом. У бочици се налази 0,1 ml конзерванса (азидиола или бронопола) за сирово млеко (у зависности од врсте узорка тј. анализа). Правилним мешањем садржаја узорка постиже се једнолично отапање, расподела и брзо деловање конзерванса у целокупној количини узорка, што осигурава трајност узорка.

3.1.13. Складиштење и транспорт узорака

Узорака млека треба чувати на хладном месту (фрижидер) до момента слања у лабораторију.

Гајбе са узорцима сировог млека преузима возач овлашћене лабораторије, директно са места на коме се чувају и транспортује их на температури од 1 °C до 4 °C до овлашћене лабораторије. Преузимање узорака обавља се физички и административно.

По пристизању у лабораторију, па до лабораторијских испитивања узорци се чувају на температури од 1 °C до 4 °C, у расхладној комори или фрижидеру.

3.1.14. Неодговарајући узорци

Приликом пријема узорака у лабораторију може се уочити и одређен број узорака који је неодговарајући из следећих разлога:

- Узорак није узет на прописан начин (велик или мали садржај млечне масти);
- Узорак није обележен бар-код налепницом (немогућност идентификације);
- Неправилно залепљена бар код налепница (отежана идентификација);
- Узорак узет из болесног вимена (узорак садржи грудвице, пахуљице, остатке крви и сл);
- Узорак садржи механичку нечистоћу (остаци сламе и сл);
- Узорак згрушаног млека (узорак није складиштен на хладном) није могуће анализирати овај узорак;
- Узорак садржи недовољну количину млека у флашици (мање од 20 ml) – недовољна количина за анализу;
- Препуњена бочица (бочица је напуњена изнад назначеног руба) није могуће хомогенизовати узорак млека, део млечне масти остаје на поклопцу, последица је добијање нереалних резултата испитивања млека;
- Узорак без конзерванса;
- Неадекватно складиштење и транспорт узорака.

3.1.15. Лабораторијски извештај

Након завршених анализа Лабораторија произвођачу доставља извештај о испитивању. Пример лабораторијског извештаја приказан је на слици 13.



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
ДЕПАРТАМАН ЗА СТОЧАРСТВО



**ЛАБОРАТОРИЈА ЗА ИСПИТИВАЊЕ
КВАЛИТЕТА МЛЕКА**
Трг Доситеја Обрадовића 8
Тел. 021/ 485 35 01; 021/ 485 34 76



ИЗВЕШТАЈ О ИСПИТИВАЊУ бр.

Подносилац захтева-власник:

Организација:

Врста узорка:

Укупан број страна:

Примерак број:

Датум пријема узор(а)ка:

Датум анализе:

ХЕМИЈСКА, ЦИТОЛОШКА И МИКРОБИОЛОШКА АНАЛИЗА СИРОВОГ МЛЕКА									
Референтни документ	ISO 9622:2020				ДСЛМ-ВДМ-01*	ДСЛМ-ВДМ-05*	SRPS EN ISO 13366-2:2008	SRPS EN ISO 16297:2020	Коментар
	Маст (%)	Протеин (%)	Лактоза (%)	Уреа (mg/dl)	Сува материја (%)	Сува материја без масти (%)	Број соматских Пелџија (*1000/ml)	Укупан број бактерија (CFU* 1000/ml)	
Шифра узорка									

Датум издавања извештаја

Извештај одобрио
Шеф Лабораторије

Извештај саверио
Директор Департамана

* Валидована метода према ISO 9622:2020

Извештај се односи на испитани узорак и не сме узимати без сагласности Директора Департамана. Лабораторија не сноси одговорност за квалитет примљених узорака, узорковања

ДСЛМ-П-01, ДСЛМ-У-04/О-57/2

11

Слика 13. Пример Лабораторијског извештаја о испитивању

3.2. УЗОРКОВАЊЕ ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА

Узорковање производа од млека врши се у циљу: утврђивања њихове хигијенске исправности, за сензорну оцену, испитивање хемијског састава, микробиолошку анализу и утврђивања присуства хемијских загађивача.

Узорак мора да представља целокупну количину производа од млека од које је узет. Врста испитивања на коју се узорак шаље дефинише количину и начин узимања узорка.

Упутства за узимање узорака млека и производа од млека, као и планови узимања узорака прописани су следећим документима:

1. Правилник о методама узимања узорака и методама хемијских и физичких анализа и производа од млека (1983) дефинисано је узорковање млека и производа од млека.
2. SRPS EN ISO 707:2010 Млеко и производи од млека — Упутство за узимање узорака (Идентичан са ISO 707:2008) прописана су упутства за узорковање млека и производа од млека за микробиолошке, хемијске, физичке и сензорне анализе, осим за (полу) аутоматско узорковање.
3. SRPS ISO 5538/IDF 113:2004 Млеко и производи од млека — Узимање узорака — Контролисање по атрибутима – одредбама овог правилника утврђени су планови узимања узорака за контролисање по атрибутима (квалитативним карактеристикама) млека и производа од млека. Стандард је намењен да се користи за бирање величине узорка у свим ситуацијама у којима се захтева утврђивање усаглашеност производне партије млечних производа са спецификацијом, испитивањем репрезентативног узорка. Стандард се не примењује за узимање узорака приликом утврђивања микробиолошке исправности, осим ако се заинтересоване стране тако не договоре.

3.2.1. Дефиниције и скраћенице

Производна партија млека и производа од млека – одговарајућа количина исте врсте производа, произведена у истим условима, истог дана или у истом делу дана и истом технологијом са обавезном ознаком за идентификацију.

Амбалажна јединица млека и производа од млека – одговарајућа количина производа упакована у појединачно амбалажно паковање одговарајуће запремине, са обавезном ознаком за идентификацију.

Лабораторијски узорак - узорак припремљен за слање у лабораторију и намењен за преглед или испитивање.

Анализирана количина узорка - количина материјала извучена из лабораторијског узорка на којем се испитивање или посматрање заправо врши.

3.2.2. Опште инструкције

Узорци млека и производа од млека могу се узимати:

1. У производњи – на производној партији или делу производне партије или
2. У промету – на амбалажним јединицама.

Начин узимања узорака мора бити исти у производњи и промету. Узорци у производњи морају се узимати тако да свака јединица производа (цистерна, контејнер, канте и сл) има исту могућност да буде изабрана за узимање узорака.

Сваки узети узорак млека и производа од млека мора представљати просечан састав целокупне количине производа од које се узима. Узорак млека и производа од млека мора да садржи најмање два примерка појединачно узета, с тим што они морају бити идентични по саставу и приближно једнаки по маси, односно запремини потребној за физичке, хемијске или микробиолошке анализе.

Број узорака зависи од врсте производа, масе, односно запремине производа у амбалажној јединици и произведене количине.

Узорке треба узети у дупликату или у већем броју, ако је то законски захтев или ако је договорено између заинтересованих страна. Стручно лице један примерак одмах доставља на анализу, а други служи за суперанализу. На захтев представника произвођача где се врши узорковање, мора се узети и трећи идентичан примерак, који се ставља на располагање том представнику.

3.2.2.1. Особље за узимање узорака

Узорке млека и производа од млека мора узорковати стручно лице. Особа која врши узорковање мора бити здрава и добро обучена. Узорковање за микробиолошке анализе морају вршити особе које већ имају искуства у узорковању млека и производа од млека за ту врсту испитивања.

3.2.2.2. Прибор за узимање узорака

Прибор и опрема (сонде, шпатуле, нож и сл.) који се користе за узорковање млека и производа од млека морају бити одговарајуће величине и запремине, чисти, суви и од материјала који не утиче на квалитет производа и резултате накнадних испитивања. Све површине прибора за узорковање морају бити глатке, без пукотина, са заобљеним угловима и лаке за прање.

Најчешће се прибор за узимање узорака млека и производа од млека израђује од нерђајућег челика или других погодних материјала који одговарају наведеним карактеристикама.

Прибор за узимање узорака за микробиолошке анализе

Приликом узимања узорака млека или производа од млека за микробиолошку анализу целокупна опрема мора бити чиста и стерилна. Пластична опрема за једнократну употребу треба да буде стерилна.

Стерилизација прибора се може извршити на један од следећих начина:

1. У сувом стерилизатору на 170 °C минимум 1 сат или еквивалентно (видети ISO 7218);
2. У аутоклаву 15 минута на минимум 121 °C±1 (видети ISO 7218);
3. Излагањем одговарајућој дози γ –зрака.

Након стерилизације, једном од метода, опрему за узимање узорака треба чувати у условима који осигуравају стерилност до узимања узорка.

Ако је у одређеној ситуацији стерилизација наведеним методама није могућа, може се користити једна од следећих алтернативних метода под условом да се опрема за узимање узорака користи одмах након третмана. Међутим, ове методе треба сматрати само секундарним методама.

1. Урањањем у кључалу воду на 1 минут или
2. Потапањем у 70% етанол и паљењем.

Након третмана наведеним алтернативним методама, опрему за узимање узорака треба охладити у одговарајућим условима да би се одржала санитарна исправност пре узимања узорка.

Прибор за узимање узорака за физичко - хемијске анализе и сензорно испитивање

Прибор за узимање узорака за физичко – хемијске анализе и сензорна испитивања мора да буде сув, чист и не сме да утиче на укус, мирис, састав и конзистенцију млека и производа од млека. У неким случајевима потребно је да прибор буде стерилан, да би се избегла микробиолошка контаминација.

3.2.2.3. Посуде за узимање узорака

Посуде у које се стављају узорци млека и производи од млека, као и затварачи за те судове, морају бити чисти, суви и од материјала који не упија воду и масноћу, а има својство да очува квалитет који је производ имао у време узимања узорака до момента испитивања, односно да заштите производ од промена које би утицале на резултате анализе или испитивања.

Материјал од кога се најчешће израђују посуде за узорковање млека и производа од млека су: стакло, неки метали (нерђајући челик) и пластични материјали (полипропилен). Посуде за узорковање треба да буду непрозирне или да

се посуда са узорком складишти на тамном месту. Треба избегавати употребу стаклених контејнера за узорковање унутар производних просторија.

Облик и запремина посуде за узорковање треба да је у складу са прописаном количином за одређену анализу и врсту узорка. Пластичне посуде за једнократну употребу, као и алуминијумска фолија одговарајуће чврстоће (стерилна или нестерилна), као и одговарајуће пластичне кесе, са прикладном методом затварања такође се могу користити. Посуде за чврсте, полу-чврсте и вискозне производе треба да имају широки отвор.

Посуде са узорком потребно је затворити одговарајућим затварачем, од пластике или метала, уз коришћење, према потреби, пластичне траке непропусне за течност, а која неће негативно утицати на особине узоркованог млека или производа од млека, његов мирис и укус и не пропушта и не упија гасове.

Посуде за узорке за микробиолошка испитивања не треба затварати чеповима од плуте или чеповима са плутеним заптивкама, чак и ако су опремљени облогама. Посуде за чврсте, получврсте или вискозне производе треба да буду са широким отвором.

Појединачна и неотворена оригинална паковања млека и производа од млека такође, могу представљати узорак или у случају недовољне количине, више таквих појединачних паковања може представљати репрезентативан узорак.

3.2.2.4. Технике узимања узорака

Узорак мора да буде репрезентативан, односно да представља целокупну количину производа од којег је узет.

Примењена метода узорковања, као и количина узетог узорка зависе од карактеристика узорка и врсте анализе.

Уколико се узимају узорци за микробиолошке анализе, хемијска и физичка испитивања, потребно је прво извршити узорковање, стерилним прибором, за микробиолошке анализе, а затим узети узорке за хемијске и физичке анализе. Уколико се врши узорковање за сензорну оцену треба водити рачуна да средство за стерилизацију не утиче на сензорне особине узетог узорка млека или производа од млека.

3.2.2.5. Записник о узимању узорака

Стручно лице које врши узорковање, након завршеног узорковања мора да сачини записник који се доставља лабораторији уз узорак. Извештај мора да буде потписан или парафиран од стране овлашћеног особља за узорковање и потписан — ако је потребно или сагласно од стране заинтересованих страна — од стране присутних сведока. У записник се уносе следећи подаци:

1. Место, датум и време узимања узорка;
2. Врста и количина производа од кога се узима узорак;
3. Метода узорковања уколико се разликује од прописане методе узорковања; укључујући припрему узорака и технике хомогенизације;
4. Број појединачно узетих узорака и количина узетог узорка;
5. Идентификациони број и код серије из које је узорак узет;

6. Количина узорка која се доставља на анализу, идентификованих по серијама из којих су узети;
7. Лабораторија где се узорци шаљу;
8. Име и адреса произвођача или трговца или лица одговорних за паковање производа;
9. Врста и количина конзерванса, уколико се додаје у узорак;
10. Записник потписује стручно лице и представник организације где је узорак узет;
11. Записник може садржати и друге податке који могу бити значајни (стање посуда у којима је узорак складиштен, температура и влажност ваздуха, потешкоће при постизању хомогене структуре узорка и сл.).

Када је потребно, извештај такође треба да садржи све релевантне услове или околности (нпр. стање посуде са производом и њихове околине, температура и влажност ваздуха, старост производа, метод стерилизације опреме за узимање узорка, да ли је конзерванс додат узорцима) и све друге посебне информације у вези са производом који се узоркује, нпр. тешкоћа у постизању хомогености производа.

Узимање узорка укључује и припрему лабораторијског узорка. Стога, извештај о узимању узорка или посебан лабораторијски извештај треба јасно да наведе како су лабораторијски узорци припремљени. Извештаји о узимању узорка се достављају надлежном органу заједно са извештајем о испитивању.

Пример извештаја о узимању узорка сира према стандарду ISO 707.

Извештај о узимању узорка сира (ISO 707)

Овај извештај о узимању узорка намењен је само за сиреве али се такође може користити као образац за остале млечне производе

Узорак

Идентификациони бр.

Опис узорка.....

Серија/код/ознака

Рок трајања.....

Врста/старост сира.....

Површина сира без корице корица корица са мрљом

(штриклирати одговор) премаз врста премаза

Бр. узорка

Маса узорка (приб).....

Амбалажа унапред упакован алуминијум пластика

(штриклирати одговор) вакуум модификована атмосфера

Порекло

Место

Датум

Локација

(име/адреса произвођача/

трговац/амбалажа)

Време узимања узорка (факултативно).....

Лабораторија/место слања.....

Име лица које узима узорак.....

Ознака лица које узима узорак.....

Потпис

Име сведока.....

Ознака сведока.....

Потпис друге стране

Узимање узорака

Релевантни услови/околности

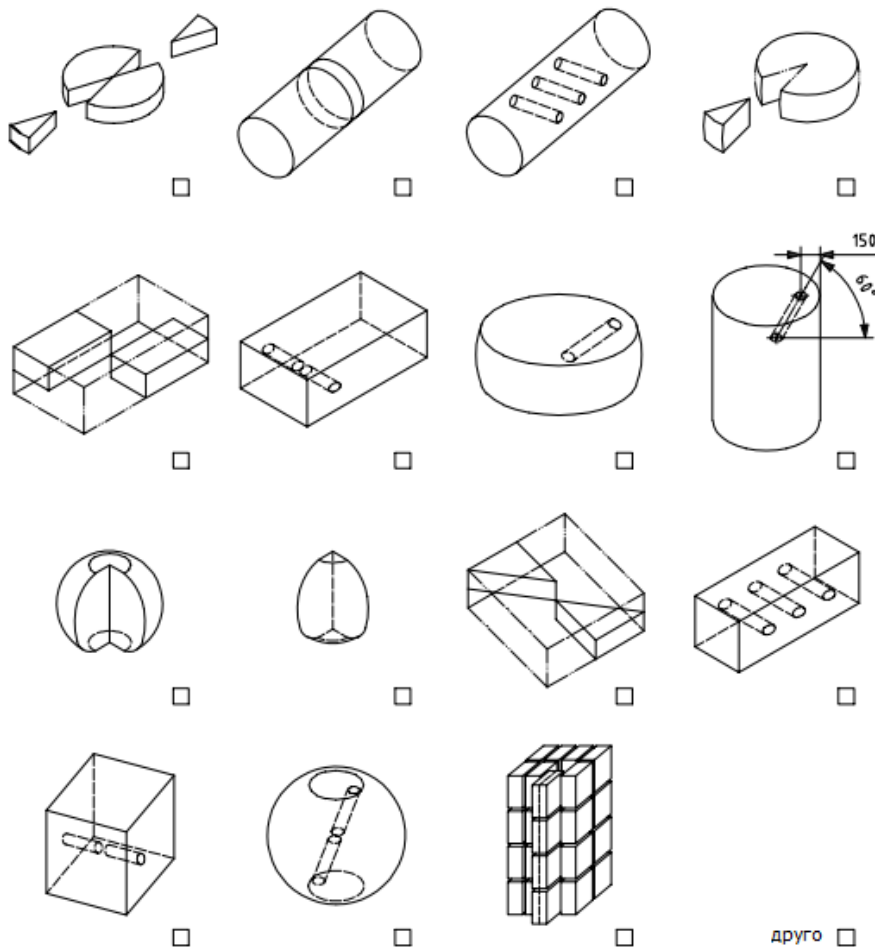
(температура/влажност ваздуха)

Конзерванси

Опрема за узимање узорака стерилисана од стране

лица које узима узорак лабораторије друго

Метода узимања узорка (штриклирати дату методу, обратите пажњу на разлике)



Детаљи у вези са узимањем узорка

Да ли је узорак садржао површинску мрљу? да не

Да ли је узорак садржао корицу? да не

Уколико није, колико милиметара корице је одсечено?

.....

Да ли су узорци рендани? да не

Припрема узорка (припрема испитне порције)

На који начин су горе наведени узорци припремљени за анализу?

Укључујући површински слој

Искључујућиmm површинског слоја, што износи% масе уклоњене са оригиналног узорка

Рендањем узорка, коришћењем следеће опреме:

.....

Другим поступком, односно

.....

3.2.2.6. Обележавање узорака

Узорци треба да буду запечаћени (ако је то законски захтев или ако је договорено између заинтересованих страна) и обележени етикетом, која омогућава идентификацију. На налепници се налазе подаци који дају информације о производу, као и потпис особе која је извршила узорковање, уколико је потребно могу се унети и додатне информације о узорку (сврха узорковања, маса или запремина узорка, као и јединица из које је узет узорак и стање производа и услови складиштења у тренутку узимања узорка).

Означивање узорака не би требало да утиче на својства или састав производа. Треба користити опрему за обележавање без мириса, нпр. трајно мастило без мириса или фломастери.

3.2.2.7. Складиштење и конзервисање узорака

Узорци млека и производа од млека који се узимају за сензорну оцену, не смеју се конзервисати, као ни узорци за микробиолошке анализе. Конзерванс се може додати уколико је лабораторија у којој се врше анализе издала инструкције да се то уради. Додати конзерванс не сме утицати на резултате испитивања, а природа и количина конзерванса мора бити наведена у записнику о узорковању.

Након завршеног узорковања, узорак треба што пре складиштити на препорученој температури. Узорци млека и производа од млека чувају се на начин предвиђен за дати производ од млека.

Време складиштења узорака до момента транспорта у лабораторију за испитивање мора бити што краће, а најдуже 24 h од момента узимања узорака.

У Табели 3. приказане су минималне количине узорка млека и појединих производа од млека, могућност конзервисања узорака, неопходна температура складиштења и транспорта дате у стандарду ISO 707.

Табела 3. Конзервисање узорака, температура складиштења и минимална количина узорка (ISO 707)

Производ	Конзервисање дозвољено за хемијске и физичке анализе	Температура складиштења и за време транспорта ¹⁾ °C	Минимална количина узорка ²⁾
Нестерилизовано млеко и млечни производи	Да	1 до 5	100 ml/g
Стерилизовано млеко, УНТ млеко и стерилизовани течни млечни производи у оригиналном паковању	Не	Собна (максимално 30)	100 ml/g
Стерилизовано млеко, УНТ млеко и стерилизовани течни млечни производи пресути из оригиналног паковања или узорковани на линији производње	Да	1 до 5	100 ml/g
Евапорисано млеко, заслађено кондензовано млеко, млечни концентрати и стерилизовани млечни концентрати	Не	Собна (максимално 30)	100 g
Полу-чврсти и чврсти млечни производи, изузев маслаца и сира	Не	1 до 5	100 g
Сладолед и полупроизводи од сладоледа	Не	≤ -18	100 g
Млеко у праху и сушени млечни производи	Не	Собна (максимално 30)	100 g
Маслац и производи од маслаца	Не	1 до 5 (на тамном)	50 g
Анхидрована млечна маст и слични производи	Не	1 до 5 (на тамном)	100 g
Свежи сир	Не	1 до 5	100 g
Топљени сир	Не	1 до 5	100 g
Друге врсте сира	Не	1 до 5	100 g

¹⁾ Температуре наведене у табели се узимају као опште упутство. За специјална испитивања погодније су друге температуре. Можда у условима праксе није могуће обезбедити температуре дате у овој табели. Препорука је да се користе одговарајуће посуде за узимање узорка и пратити и бележити температуру на одговарајући начин.

²⁾ Уколико испитивање захтева узимају се веће количине узорка

3.2.2.8. Транспорт узорака

Узорке треба у што краћем року доставити до лабораторије, не дуже од 24 часа. Приликом транспорта треба водити рачуна да се спрече сви утицаји који могу довести до промене узорка. Ако је хлађење неопходно, минимални захтеви које треба испунити су температурни распони који су или законски прописани или прописани од стране произвођача. Температура складиштења након узимања узорка треба да се постигне што је пре могуће. Време и температуру треба узети у обзир у комбинацији, а не независно.

Током транспорта, где је потребно, треба предузети мере предострожности како би се спречило излагање непријатним мирисима, директној сунчевој светлости и другим неповољним условима.

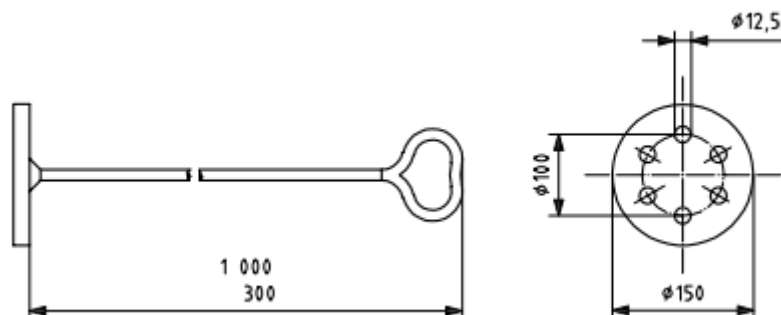
3.2.3. Узимање узорака млека и течних производа од млека

Ово поглавље се односи на узорковање следећих производа: сирово и термички обрађено млеко, пуномасно, делимично обрано и обрано млеко, ароматизовано млеко, павлаку, млаћеницу, течну сурутку и друге сличне производе.

Ако се млеко и течни производи од млека налазе у судовима великих запремина (цистерне, канте, контејнери и сл), пре узорковања неопходно је измешати одговарајућом мешалицом. Апаратура за мешање течности у расутом стању треба да има површину довољну да произведе адекватно мешање производа. С обзиром на различите облике и величине посуда, не може се препоручити посебан дизајн апаратуре за све намене, али треба да буду пројектована тако да се избегне оштећење унутрашње површине посуде током мешања. Мешалица мора бити довољно велика да би се добро измешала целокупна течност у суду. Ако се млеко налази у великом танку препоручује се мешање чистим компримованим ваздухом, уколико у танку не постоји оригинална механичка мешалица.

Опрема за ручно мешање у малим судовима

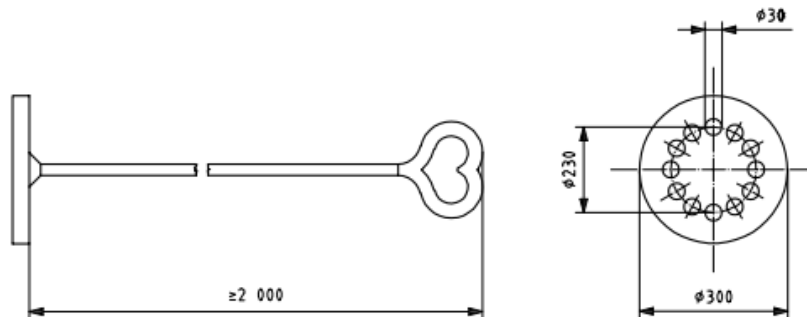
За мешање течности у малим судовима (нпр. у кантама и лименкама) погодна је мешалица дизајна и димензија приказаних на слици 14. Дужина треба да буде прилагођена дубини посуде.



Слика 14. Препоручена мешалица (клип) за кофе и канте (димензије су у милиметрима) (ISO 707)

Опрема за ручно мешање у великим судовима

Мешалица, дизајна и димензија приказаних на слици 15., је погодна за мешање течности у већим судовима (нпр. цистерне на камионима и фарми).



Слика 15. Мешалица адекватна за мешање млека и течних производа од млека у судовима великих запремина (димензије су у милиметрима) (ISO 707)

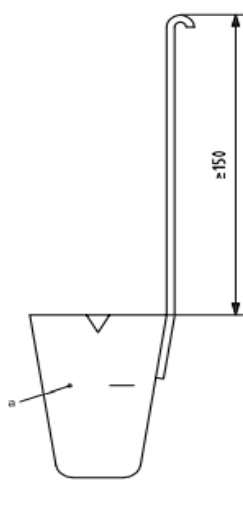
Опрема за механичко мешање

Уграђене мешалице - Производ који се меша у резервоару или посуди одређује техничке податке и конструкцију уграђених мешалица. Користе се различите врсте мешалица.

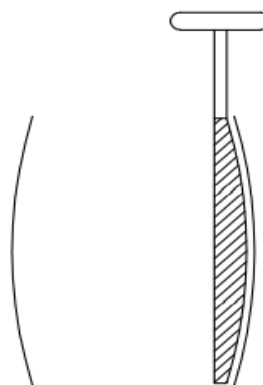
Мешалице које се могу уклонити - Уклониве мешалице су углавном опремљене елисом и уводе се у транспортне цистерне преко инспекцијског улаза. Најбољи резултати мешања се постижу на дубини која одговара 0,7 висине пуњења. Препоручује се да мешалица буде нагнута под углом од 5° до 20° .

Опрема за узимање узорака

Непосредно после мешања, специјалном кашиком/кутлачом за узимање узорака, са дугачком дршком, узима се узорак са различитих места у суду (Слика 16) с тим да количина узетог узорка која се доставља на анализу износи око 250 ml.



Слика 16. Кутлача адекватна за течности



Слика 17. Мешалица за мешање заслађеног кондензованог млека у бурадима (ISO 707)

Узорак се узима из сваког насумице изабраног суда на основу пондерисаних вредности појединачних запремина узетог узорка, и то:

1. Утврди се количина узорка потребног за анализу физичким и хемијским методама (око 250 ml),
2. Одреди се збир количина производа у сваком насумице изабраном суду из кога се узима узорак,
3. Уједначе се мерне јединице из тачке 1 са мерним јединицама из тачке 2, а количник њихових вредности множи се са сваком појединачном количином производа у судовима из којих се узима узорак. Добијене вредности представљају појединачне запремине производа који се узима из сваког суда.
4. Збир добијених вредности мора представљати приближну вредност запремине сваке јединице узорка који се доставља на анализу.

Ако су млеко и течни производи од млека оригинално упаковани у амбалажне јединице мањих запремина, број узорака, у производњи и промету, одређује се према Табели 4.

Табела 4. Одређивање броја узорака млека и течних производа од млека оригинално упакованих у мање амбалажне јединице

Млеко и течни производи од млека	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Запремина до 1 литра	до 5.000 јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 3.000 јединица	Најмање по 1 узорак
Запремина већа од 1 литра	до 10.000 јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 5.000 јединица	Најмање по 1 узорак

*Правилник 32/1983.

За узимање узорака врло густих производа од млека (концентрисано млеко и концентрисано заслађено млеко) мешалица мора имати погодну радну површину да би се приликом мешања захватила и маса са зиова суда (Слика 17). Одмах затим, специјалном кашиком за узимање узорака узима се 2 до 3 литра производа, од чега се, после мешања, издвоји око 250 ml за узорак.

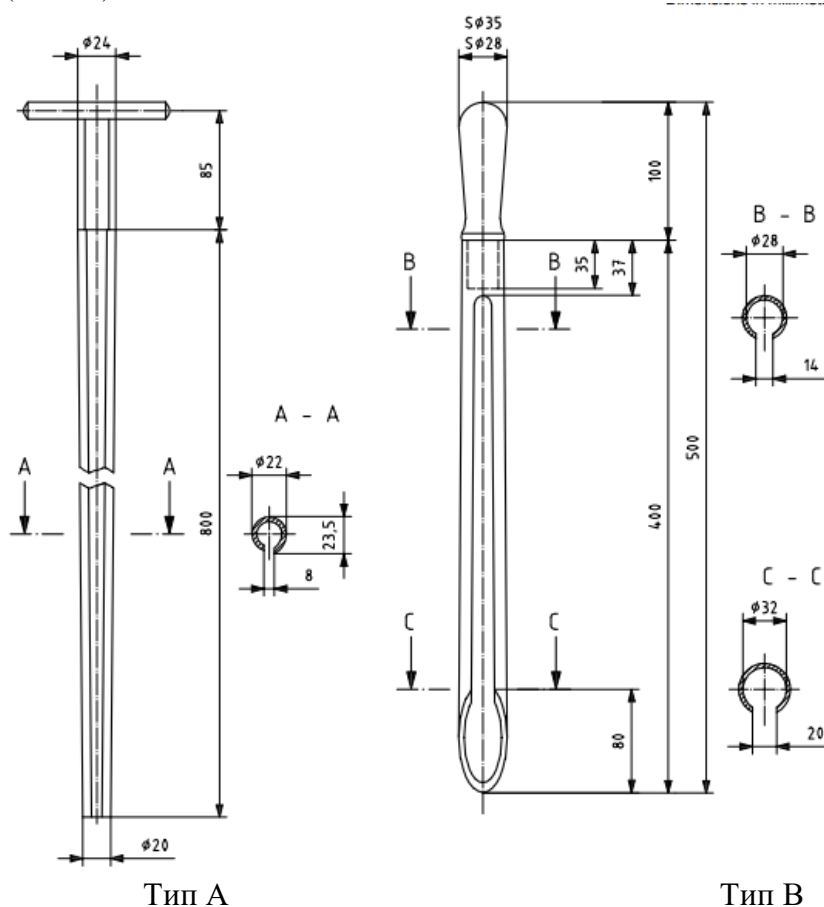
3.2.4. Узимање узорака млека у праху и прашкастих производа од млека

Узорци млека у праху и прашкастих производа од млека који се налазе у судовима великих запремина (бурад, вреће и сл.) узимају се сондом за млеко у праху вертикалним утискивањем сонде до дна суда. Сонда се извуче, а прах без додоривања руком, пренесе у суд за узорак. Поступак се понавља, с тим што се сонда утискује на различитим местима у суду, док се не добије количина од приближно 500 g узорка. У Табели 5. приказане су димензије сонди за млеко у праху, а изглед на слици 18.

Табела 5. Димензије сонди за млеко у праху

Димензије	Тип А (дугачка)	Тип В (крајка)
Дужина сечива (mm)	800	400
Дебљина метала на сечиву (mm)	1 до 2	1 до 2
Унутрашњи пречник сечива на врху (mm)	18	32
Унутрашњи пречник сечива при дршци (mm)	22	28
Ширина прореза на врху (mm)	4	20
Ширина прореза при дршци (mm)	14	14

*(ISO 707)



Слика 18. Сонде за млеко у праху (ISO 707) (видети табелу 5)

Суд за узорак мора бити погодног облика који омогућава да се после затварања суда са узорком садржај измеша.

За пренос узорака млека у праху и прашкастих производа од млека користе се и погодне пластичне кесе које се могу херметички затворити, а које морају бити израђене од материјала предвиђеног за паковање прехранбених производа.

Број узорака за узимање узорака млека у праху и прашкастих производа од млека, оригинално упакованих, у производњи и промету, одређује се према табели 6.

Табела 6. Одређивање броја узорака млека у праху и прашкастих производа од млека, оригинално упакованих у мање амбалажне јединице

Млеко у праху и прашкасти производи од млека	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Масе до 1 kg	до 5.000 јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 1.000 јединица	Најмање по 1 узорак
Масе веће од 1 kg	до 10.000 јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 3.000 јединица	Најмање по 1 узорак

*Правилник 32/1983.

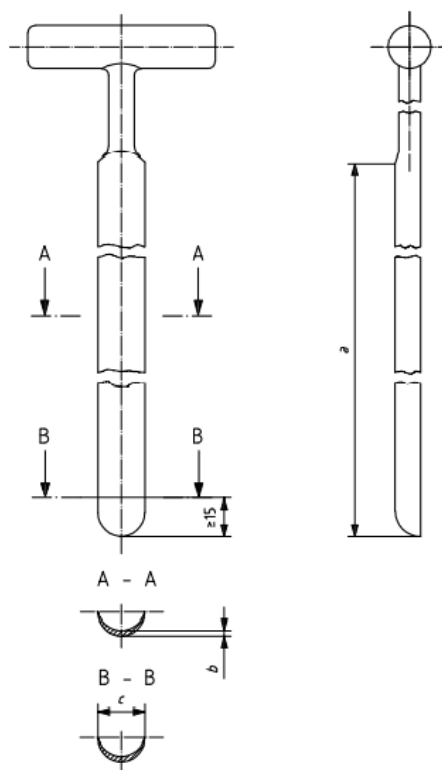
3.2.5. Узимање узорака маслаца

Узорак маслаца који се налази у судовима великих запремина узима се сондом за маслац довољне дужине да дијагонално продре до дна суда. Маслац се сондира дијагонално, полазећи од ивице површине до дна суда. Сонда се извуче, а садржај ножем или шпатулом пренесе у суд за узорак. Поступак се понови са супротне стране горње површине, а трећи пут се сондира вертикално. Маса узорака мора износити укупно 250 g. У табели 7. приказане су димензије сонди за маслац, а њихов изглед на слици 19.

Табела 7. – Сонде за маслац

Димензије	Тип А (дугачка)	Тип В (средња)	Тип С (кратка)
Дужина сечива, <i>a</i> (mm)	540	220 до 260	125
Минимална дебљина метала на средини сечива, <i>b</i> (mm)	1,8	1,5	1,0
Минимална предња ширина на 15mm од краја сечива, <i>c</i> (mm)	17	17	11
НАПОМЕНА: Обично се користе сонде типа В. У конкретним случајевима могу се такође, користити и тип А (дугачка) и тип С (кратка)			

*(ISO 707)



Слика 19.— Сонда за маслац (димензије су у милиметрима) (ISO 707)
(видети табелу 7)

Узорак смрзнутог маслаца узима се сондом после одмрзавања и чувања на 10 °C током 24 часа. Комад маслаца масе 250 g или већи дели се на четири приближно једнака дела, а за узорак се узимају четвртине са супротних страна јединице. Упаковани комади масе мање од 250 g узимају се за узорак цели.

Број узорака маслаца, оригинално упакованих, у производњи и промету, одређује се према Табели 8.

Табела 8. Одређивање броја узорака маслаца, оригинално упакованих

Маслац	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Масе до 1 kg	до 10.000 јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 2.000 јединица	Најмање по 1 узорак
Масе веће од 1 kg	до 15.000 збирних јединица	Најмање по 1 узорак
	за сваких даљих 3.000 јединица	Најмање по 1 узорак

*Правилник 32/1983.

Судови у које се смештају узорци маслаца морају бити стаклени, са широким отвором и запушачем од брушеног стакла.

3.2.6. Узимање узорака сира

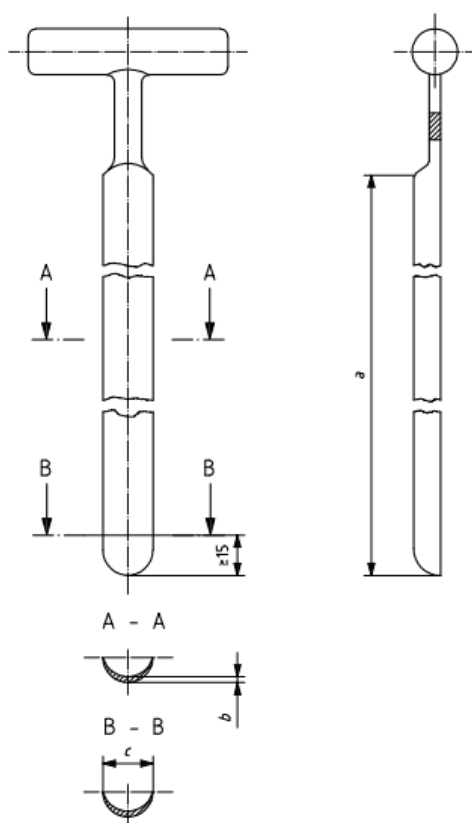
Узорци сира узимају се, зависно од врсте, степена зрелости, величине и облика, једним од следећих поступака:

- Сондирањем сондом за сир (тврди и полутврди сиреви, као и сиреви великих димензија),

- Сечењем оштрим ножем (меки, тврди и полутврди сиреви, сиреви малих димензија, као и остали сиреви).

Узорци сира узимају се сондирањем тако што се сонда за сир утискује кроз масу сира од површине ка центру јединице, с тим да место убода буде најмање 10 cm удаљено од ивице блока или катура, а може се сондирати и хоризонталним убадањем сонде на средини између две равне површине. Сонда се извуче и сир се, без додиривања руком, пренесе ножем у суд за узорак. Поступак се понавља с другог краја површине, док узорак не достигне масу од око 50 g. Отвор који настаје сондирањем мора се брижљиво затворити делом сира извађеног сондом.

У Табели 9. приказане су димензије сонди за сир, а изглед на слици 20.



Слика 20. – Сонда за сир (димензије су у милиметрима) (ISO 707)

Табела 9. – Сонде за сир (ISO 707)

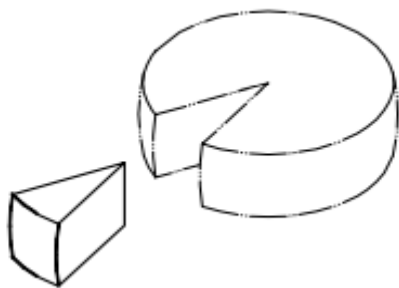
Димензије	Тип А (дугачка)	Тип В (средња)	Тип С (кратка)
Дужина сечива, a (mm)	540	150	125
Минимална дебљина метала на средини сечива, b (mm)	1,5	0,9	0,7
Минимална предња ширина на 15mm од краја сечива, c (mm)	17	14	11

Узорци меких, тврдих и полутврдих сирева масе до 2 kg узимају се сечењем оштрим ножем. Ако је тврди или полутврди сир цилиндричног облика, сир се пресеке на два места (два пресека), радијално од центра према ивици. Уколико је

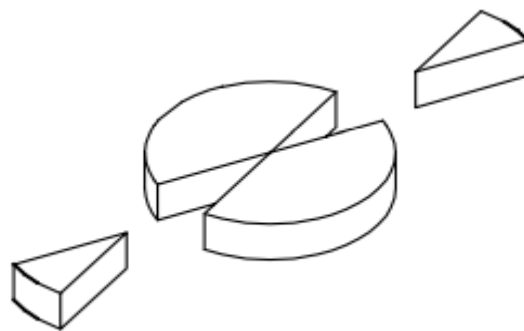
сир у облику блока, пресеке се на два места (два пресека) паралелно са странама блока. Маса узорка мора бити око 50 g.

Узорак сира који се налази у посудама великих запремина (бурад, карлице и сл.) узима се сондом за сир, која се утискује вертикално на површину сира до дна суда. Сонда се извуче и сир се, без додиривања руком, пренесе у суд за узорак. Поступак се понавља док укупна маса узорка не достигне око 200 g.

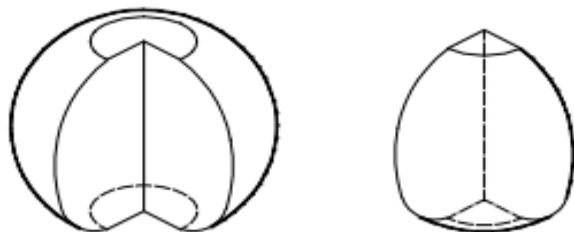
Узорак сира из саламуре узима се сечењем насумице одабраних кришки ножем према претходно описаном поступку . Маса узорка мора износити око 200 g. Облици узорка сира приказани су на сликама од 21. до 38.



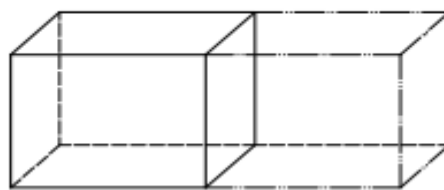
Слика 21. Узорковање сира равног цилиндричног облика исецањем једне кришке



Слика 22. Узорковање сечењем две кришке



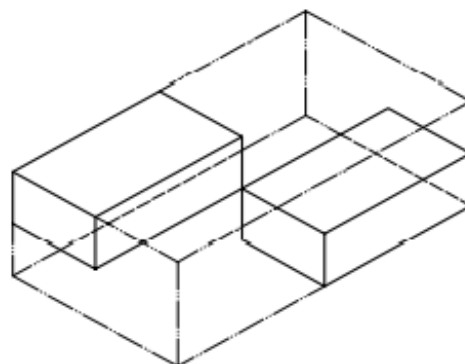
Слика 23. Узорковање сира сферичног облика са спљоштеним странама, исецањем кришке



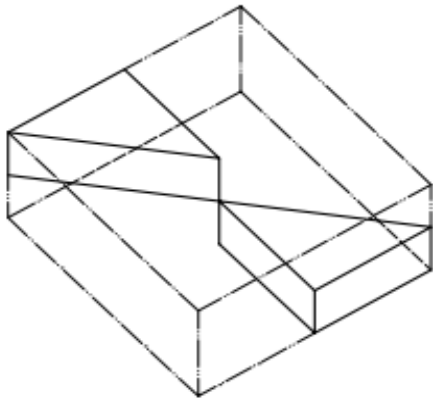
Слика 24. Узимање узорка сечењем комада сира у облику блока или векне масе од 3kg до 5kg код којих је највеће наличје правоугаоно, а не квадратно



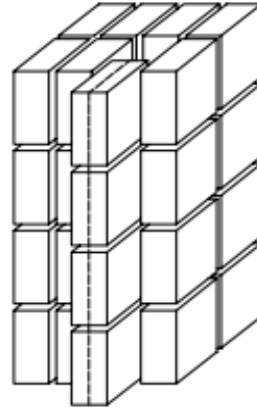
Слика 25. Узимање узорка изрезивањем комада сира у облику блока или векне масе од 10kg до 20kg, код којих је највеће наличје правоугаоно, а не квадратно



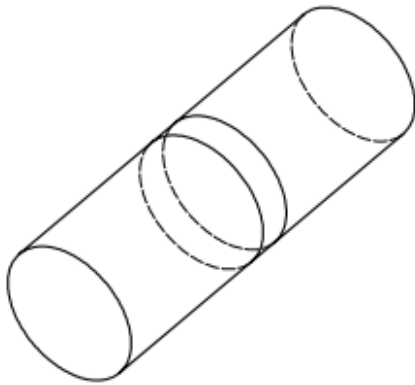
Слика 26. Узимање узорка изрезивањем комада сира у облику блока или векне код којих је највеће наличје правоугаоно, а не квадратно



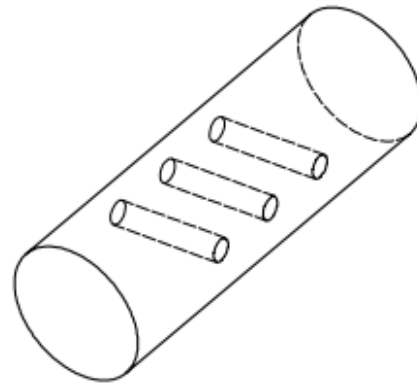
Слика 27. Узимање узорка сечењем комада сира у облику блока у коме је највеће наличје четвртасто



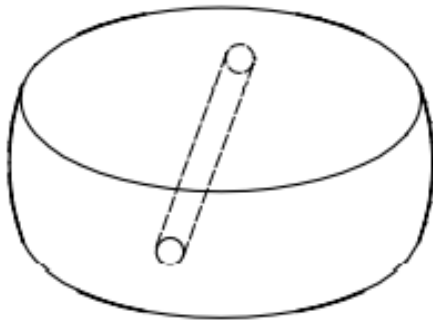
Слика 28. Узимање узорка сира у сланом раствору из посуде са више од четири блока сира



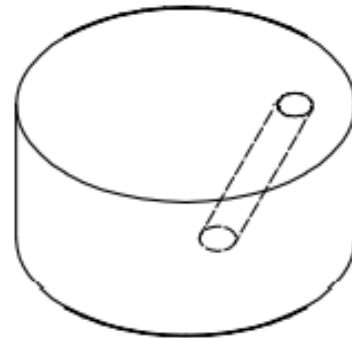
Слика 29. Узимање узорка исечањем једног дела



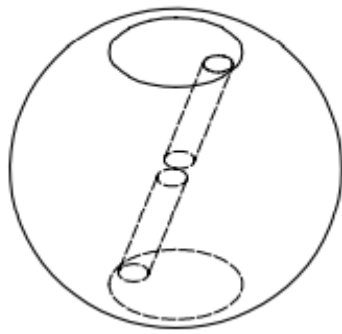
Слика 30. Узимање узорка помоћу сонде



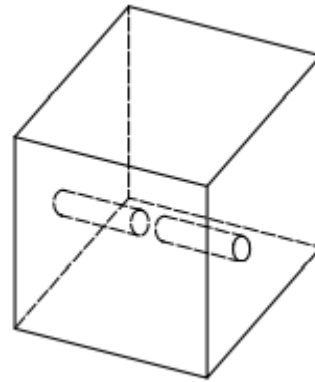
Слика 31. Узимање узорка пљоснатог цилиндричног сира са стране помоћу сонде



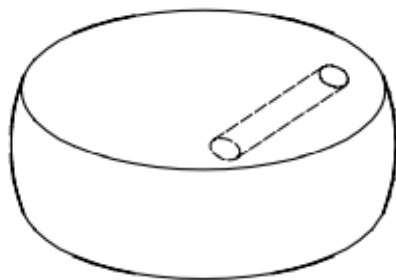
Слика 32. Узимање узорка широког цилиндричног сира коришћењем искошене сонде одозго кроз производ



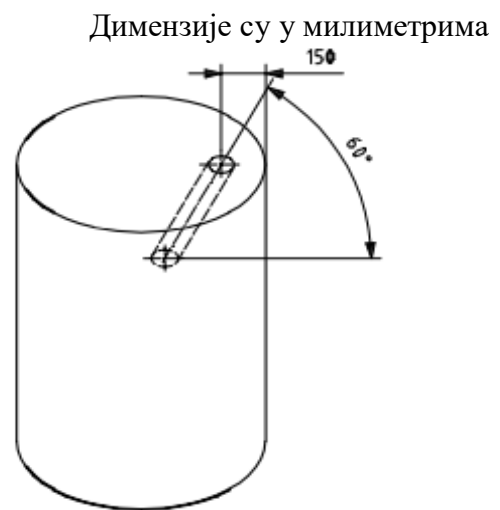
Слика 33. Узимање узорка сферичног сира са заравњеним странама, користећи сонду



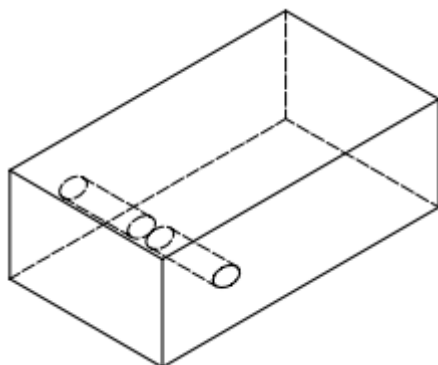
Слика 34. Узимање узорка коцкастог сира користећи сонду



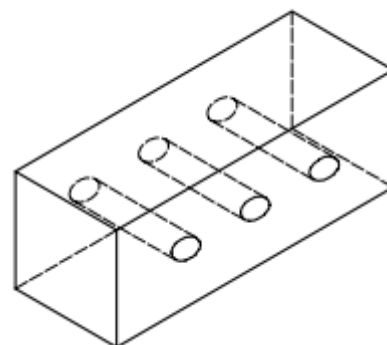
Слика 35. Узимање узорка великог пљоснатог цилиндричног сира помоћу сонде



Слика 36. Узимање узорка дугачког цилиндричног сира помоћу сонде



Слика 37. Узимање узорка сира у облику блока коришћењем сонде



Слика 38. Узимање узорка сира у облику блока (векне) коришћењем сонде

Као узорак сира оригинално упакованог у амбалажне јединице до 250 g узима се цело паковање (јединица, комад). Број узорака сира у производњи и промету, одређује се према табели 10.

Табела 10. Одређивање броја узорака сира

Тврди и полутврди сиреви и сиреви из саламуре	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Масе до 5 kg	до 5.000 јединица	Најмање по 1
	за сваких даљих 2.000 јединица	Најмање по 1
Масе веће од 5 kg	до 10.000 збирних јединица	Најмање по 1
	за сваких даљих 3.000 јединица	Најмање по 1
Меки сиреви	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Масе до 20 kg	до 5.000 јединица	Најмање по 1
	за сваких даљих 2.000 јединица	Најмање по 1
Масе веће од 20 kg	до 10.000 збирних јединица	Најмање по 1
	за сваких даљих 3.000 јединица	Најмање по 1
Сиреви оригинално упаковани	Количина од које се узима узорак	Број узорака
Масе до 250 g	до 5.000 јединица	Најмање по 1
	за сваких даљих 2.000 јединица	Најмање по 1

*Правилник 32/1983.

ПОГЛАВЉЕ III

ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМИЈСКОГ САСТАВА МЛЕКА И ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА



4. ПРИПРЕМА УЗОРАКА МЛЕКА И ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА ПРЕ АНАЛИЗЕ

Пре анализе млека или производа од млека потребно је узети узорак припремити за анализу. Припрема узорка за анализу подразумева хомогенизацију узорка пре анализе, загревање у зависности од врсте узорка и врсте анализе, одмеравање потребне количине узорка за анализу и друге потребне операције.

4.1. Припремање узорка млека

Узорак млека за испитивање пре анализе се добро измеша пресипањем из једног суда у други суд, пазећи да се не ствара пена. Ако се на површини млека издвајају грудвице масти, суд са млеком се мора догревати урањањем у воду температуре до 40 °C све док се грудвице масти не истопе. Млеко се добро измеша и кад се поново емулгује брзо се охлади на температуру од 20 °C до 25 °C. Након ове припреме врши се одређивање: запреминске масе лактодензиметром, киселости млека, масти у млеку – ацидобутирометријском методом по Герберу, као и суве материје сушењем.

Приликом анализе млека инструменталним методама такође, потребно је пре анализе узорак млека загрејати на температуру 40 °C \pm 2 да би се издвојен слој млечне масти могао хомогенизовати и тако загрејан узорак се анализира на инструменту применом инфрацрвене спектрофотометрије.

НАПОМЕНА: Не могу се очекивати тачни резултати ако узорак садржи одвојену течну маст или одвојене видљиве беле честице неправилног облика које се прилепе на зидове посуде.

4.2. Припремање узорка киселог млека и јогурта

Оригинално паковање киселог млека, јогурта или неког другог ферментисаног производа од млека, односно целокупна количина узорка производа добро се измеша кашиком или протресањем садржаја, а затим се одмери количина лабораторијског узорка потребног за одређену анализу.

4.3. Припремање узорка згуснутог млека

У згуснуто млеко спада: евапорирано млеко, односно згуснуто млеко без додатог шећера и кондензовано млеко, односно згуснуто млеко са додатим шећером.

Оригинално паковање или количина узорка за испитивање хомогенизује се честим окретањем, а затим и мешањем кашиком и одмери најмање 200 ml, односно 200 g, као количина потребна за хемијске анализе.

Ако је у питању кондензовано млеко, лименка се претходно држи у воденом купатилу на 40°C, а потом измеша и целокупан садржај прелије у стаклену посуду са запушачем од брушеног стакла.

НАПОМЕНА: Ако се маст одваја, не могу се очекивати тачни резултати.

4.4. Припремање узорка млека у праху

За анализу млека у праху узима се оригинално паковање или 300 g узорка за испитивање. У посуду од лима или стакла, чија је запремина најмање два пута већа од запремине узорка за испитивање, стави се млеко у праху. Посуда се затвори, добро протресе и окрене неколико пута да се садржај измеша, а одмах затим се одмери количина млека у праху потребна за одговарајућу анализу. Испитивање мора одмах да почне да млеко у праху не би упило влагу из ваздуха.

Реконституисање млека од млека у праху

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) одмерна тиквица од 100 ml;
- 2) порцелански тарионик са тучком;
- 3) левак.

Поступак реконституисања млека

Одмери се 12,5 g пуномасног млека у праху, односно 9 g обраног млека у праху и у тарионику пажљиво растрља уз додавање дестиловане воде температуре 50°C да не би остале грудвице млека у праху. Смеша воде и млека пренесе се у одмерну тиквицу, а тарионик се испира дестилованом водом док се целокупна количина млека не пренесе у одмерну тиквицу. Затим се садржај охлади и одмерна тиквица допуни водом до ознаке.

4.5. Припремање узорка павлаке

За целокупну анализу потребно је 100 до 200 ml павлаке. За одређивање само садржаја масти користи се 50 ml павлаке.

Да би се олакшало одмеравање павлаке пипетом, или ако се у павлаци налазе издвојене честице маслаца, павлака се загрева у топлом воденом купатилу до 35°C, односно 40°C, уз мешање, али не тако снажно да изазове пену или бућкање, док се садржај потпуно не хомогенизује. Узорак се затим брзо охлади на 20°C до 25°C.

Узорак се пре анализе добро промеша на тај начин што се више пута пресипа из једне посуде у другу.

НАПОМЕНА: Не могу се очекивати тачни резултати ако се не постигне адекватно мешање узорка или ако узорак показује било какве знаке мешања или било које друге знаке абнормалности.

4.6. Припремање узорака сира

Узорци меких сирева хомогенизују се у тарионику. Тврди сиреви се изрендају на треници или самелу у машини за млевање мяса, пошто им се претходно скине кора или заштитни премаз.

Хомогенизовани узорак меког сира, односно уситњен или самлевен узорак тврдог сира одмах се успе до врха танке стаклене посуде са широким грлом и затвори се запушачем од брушеног стакла.

4.7. Припремање узорака маслаца

За испитивање је потребно најмање 100 g маслаца или једно оригинално паковање.

Пре испитивања, посуда са лабораторијским узорком се стави у водено купатило температуре око 28 °C (не више од 39 °C) да се маслац истопи, а затим се садржај хлади, уз непрестано мешање стакленим штапићем, док се не стегне. Од стегнуте масе узорка маслаца одмерава се количина узорка за испитивање.

4.8. Припремање узорака сладоледа

За испитивање је потребно најмање 50 g узорка сладоледа или оригинално паковање најмање исте масе.

Узорак сладоледа се истопи у посуди која се стави у водено купатило на око 45 °C. Истопљени узорак сладоледа добро се измеша и одмах се одмерава количина узорка потребна за испитивање.

5. ОДРЕЂИВАЊЕ СУВЕ МАТЕРИЈЕ

5.1. Одређивање суве материје млека

Сува материја (СМ) представља све састојке млека осим воде и гасова. Најтачније се одређује сушењем до потпуног губитка воде, што се утврђује мерењем на ваги одмерене количине млека која се суши у посебним условима. Сува материја може се одређивати и инструменталним методама, под условом да су инструменти калибрисани узорцима код којих је сува материја одређена референтном методом. Може да се одреди и индиректно рачунски коришћењем Флајшманове или неке друге формуле.

Садржај СМ у крављем млеку креће се од 11 до 14%, најчешће 12,7%. Сува материја млека представља збир количина свих појединачних састојака млека и мења се у зависности од њихове варијабилности. Варијабилност садржаја суве материје највише зависи од садржаја млечне масти. Одузимањем садржаја млечне масти од суве материје добија се сува материја без масти (СМБМ). Њена вредност је доста константна, нарочито код мешаног млека више крава. Праћење садржаја ова два параметра је веома значајно јер директно утичу на рандман неких млечних производа.

5.1.1. Одређивање СМ млека сушењем

Референтни метод наведен у међународном стандарду ISO 6731:2010/ IDF 21:2010 и Правилнику о методама узимања узорака и методама физичких анализа млека и производа од млека (32/1983), којим се одређује укупни садржај суве материје млека који преостаје након завршетка процеса сушења.

Принцип

Ова се метода заснива на принципу сушења испитиваног узорка у одређеним условима до константне масе. Садржај суве материје представља масу која остаје након упаравања воде у узорку на температури 102 ± 1 °C и изражава се у масеним процентима.

Овај референтни метод користи се за одређивање садржаја суве материје млека, павлаке и кондензованог незаслађеног млека.

Опрема која је потребна поред уобичајене лабораторијске апаратуре:

- посуда са поклопцем (од алуминијума, нерђајућег челика, никла),
- аналитичка вага,
- стаклени штапић,
- ижарени песак,
- лабораторијска сушница на 102 °C и
- ексикатор са средством за сушење.

Поступак сушења:

- У посуду са поклопцем, стакленим штапићем и ижареним песком, претходно осушену на 102 ± 1 °C најмање 1 сат и затим измерену, одмери се око 3 g млека, са тачношћу од 0,001 g.
- Код кондензованог незаслађеног млека додати 3 до 5 ml воде, измешати и распоредити садржај по дну посуде.
- Млеко се измеша са песком да би добило већу површину испаравања, а потом суши у сушници око два сата. За време сушења у сушници посуда мора да буде отворена, а поклопац стављен поред ње.
- После сушења посуда се поклопи и стави у ексикатор, да се хлади најмање 30 минута, а затим мери.
- Сушење, на исти начин, се понови у трајању од 1 сата, хлади и поново мери.
- Поступак се понавља све док се не добије константна маса тј. два узастопна мерења исте вредности или повећање масе, што настаје због оксидације сувог остатка при загревању. У том случају се за израчунавање узима претходна вредност.

$$CM (\%) = (M_2 - M_0 / M_1 - M_0) \times 100$$

CM – масени проценат укупне суве материје у узорку (%)

M_0 – маса празне посуде, без млека (g)

M_1 – маса посуде са узорком пре сушења (g)

M_2 – маса посуде са узорком после сушења (g)

- На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.
- Садржај суве материје се одређује до разлике од 0,01 % између два мерења.
- Разлика између резултата одређивања суве материје у две пробе истог узорка који је анализирао један аналитичар на истој апаратури у кратком временском интервалу може бити већа за највише 0,10 g / 100 g од просека у само једном од 20 случајева.
- Разлика између два појединачна и независна резултата одређивања садржаја суве материје истог узорка која су добила два аналитичара у различитим лабораторијама може бити већа за највише 0,20 g / 100 g од просека у само једном од 20 случајева.

5.1.2. Индиректна метода одређивања СМ млека

За брзо одређивање суве материје млека могу се користити и различите рачунске методе, односно применити формуле које су саставили различити аутори. Све рачунске методе заснивају се на корелацијама које постоје између појединих састојака млека, а које су условљене законима секреције млека и физичко-хемијским особинама појединих састојака. Међу овим формулама најпознатија је Флајшманова (1882).

Израчунавање СМ по Флајшмановој формули

Применом Флајшманове формуле може се брзо одредити садржај суве материје, али ова метода није тачна као референтна. Приликом израчунавања СМ користи се формула, где се на основу садржаја масти и специфичне тежине обрачунски долази до суве материје млека. Флајшман је извео формулу за млеко са 3,4% масти и 12,40% суве материје (9,00% суве материје без масти) при специфичној тежини млечне масти од 0,931 и специфичној тежини безмасне суве материје од 1,6007.

$$СМ = 1,2 m + 2,665 \times ((100 d - 100)/d)$$

Где је:

СМ = суви остатак у %;

m = маст у %;

d = специфична тежина млека на 15°C.

Статистичко тестирање применом т-теста показало је веома значајне разлике између резултата добијених методом сушења и Флајшмановом методом (за око 0,2 до 0,4%). Садржај суве материје израчунат применом Флајшманове формуле има већу вредност. На основу тога предложена је корекција Флајшманове формуле, по Richmond-у, која је следећа:

$$СМБМ = 0,21 m + 0,25 D + 0,66$$

Где је:

СМБМ – сува материја без масти (%)

m = маст (%);

D = специфична тежина на 20°C (релативна запреминска маса на 20°C)

Одређивање садржаја СМ на основу садржаја масти и протеина у млеку

Нешто поузданији резултати добијају се ако се сува материја израчунава на основу садржаја масти и протеина у млеку. Вујичић (1982) је извео следећу формулу, за млеко са подручја Војводине, где је заступљена холштајн фризијска раса крава:

$$СМ = 6,772 + 0,8312 M + 0,7333 П$$

Где је:

СМ – сува материја

M – садржај млечне масти (%)

П – садржај протеина (%)

5.1.3. Одређивање СМ млека инструменталним методама

Данас се за одређивање суве материје млека све више користе инструменти који одређују садржај СМ и других састојака млека применом инфрацрвене спектрофотометрије уз примену Фуријерове трансформације. Неопходно је да су инструменти еталонирани са узорцима у којима је садржај СМ одређен референтном методом – сушењем.

5.2. Одређивање СМ у киселом млеку и јогурту

Одређивање суве материје у киселом млеку и јогурту, као и другим ферментисаним производима од млека, заснива се на истом принципу као и одређивање суве материје млека. Поступак, апаратура и прибор су исти као и код одређивања суве материје млека методом сушења.

5.3. Одређивање воде у млеку у праху

Принцип и примена

Ова метода се заснива на принципу сушења одмерене количине узорка млека у праху до константне масе. Ова метода се користи за одређивање воде у млеку у праху, а резултат се изражава у процентима.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) алуминијумска посуда пречника 6 cm и висине 3 cm, са поклопцем;
- 2) сушница;
- 3) ексикатор, са средством за сушење;
- 4) аналитичка вага.

Поступак одређивања воде у млеку у праху

Алуминијумска посуда се суши један час у сушници на 102°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$). Затим се извади, охлади у ексикатору и измери. У посуду се одмери 1 g млека у праху, са тачношћу од 0,001 g и одмах се посуда затвори. Узорак млека у праху суши се у отвореној алуминијумској посуди два сата на температури од 102°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), а затим се посуда затвори, охлади у ексикатору и измери. Узорак се поново суши током једног сата, затим се хлади и мери. Сушење се понавља све док разлика резултата два узастопна мерења износи више од 0,0005 g или док се не повећа маса.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

Поступак израчунавања:

$$\text{Процент воде у млеку у праху} = (a-b)/c \times 100$$

Где је:

a – маса алуминијумске посуде са поклопцем и одмереном количином узорка пре сушења, у g;

b – маса алуминијумске посуде са поклопцем и узорком после сушења, у g;

c – маса одмереног узорка, у g.

Разлика између резултата два одређивања извршена истовремено или непосредно једно за другим, не сме бити већа од 0,06%.

5.4. Одређивање воде у сиру методом сушења

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) аналитичка вага;
- 2) метална посуда (пречника 6 cm до 7 cm и висине 3 cm), са стакленим штапићем и поклопцем који се лако скида;
- 3) водено купатило;
- 4) лабораторијска сушница;
- 5) ексикатор са средством за сушење;
- 6) песак испран 5%-ном хлороводоничном киселином, а затим водом, док се не одстрани остаци хлороводоничне киселине, а потом ижарен.

Поступак сушења

У претходно осушену, охлађену и измерену металну посуду са ижареним песком и стакленим штапићем, измери се 2 до 3 g припремљеног узорка сира, са тачношћу од 0,001 g. Затим се посуда са узорком унесе у сушницу и суши један до два сата на температури од $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Потом се посуда са узорком охлади и измери. Сушење се понавља док разлика између два узастопна мерења не буде мања од 1 mg.

Ако се претходно не загрева у воденом купатилу, узорак се у току сушења у сушници мора три до пет пута (сваких пет минута) извадити из сушнице и промешати стакленим штапићем. Затим се поступак сушења наставља на описани начин. На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

Израчунавање

$$\text{Садржај воде у сиру (\%)} = (a/c) \times 100$$

Где је:

a – разлика у маси металне посуде са узорком пре и после сушења, у g;

c – одмерена количина узорка, у g.

Разлика између резултата два одређивања која је извршио исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку, истом методом, у истим условима и у истој лабораторији, не сме бити већа од 0,1% воде.

5.5. Одређивање воде у маслацу

а) Метода сушењем

Принцип и примена

Ова метода се заснива на принципу мерења губитка масе маслаца пре и после сушења под одређеним условима.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) аналитичка вага;
- 2) лабораторијска сушница;
- 3) ексикатор са средством за сушење (силикагел);
- 4) метална посуда (пречника 6 cm до 8 cm и висине 2 cm), са зрнима пловушца величине 2,8 до 3,4 mm.

Поступак сушења

У металну посуду стави се 12 g до 15 g пловушца и суши до константне масе на $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Затим се посуда са пловушцем хлади у ексикатору и мери. У одмерену и осушену посуду са пловушцем унесе се 5 до 10 g узорака за испитивање, мерено са тачношћу од 0,001 g. Посуда са узорком унесе се у сушницу и суши два сата на $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, затим извади, хлади у ексикатору и мери. Сушење у трајању по пола сата понавља се уз наизменично хлађење и мерење, све док разлика између резултата два узастопна мерења не буде мања од 0,5 mg.

Израчунавање

$$\text{Садржај воде у маслацу (\%)} = (a/b) \times 100$$

где је:

a – разлика у маси посуде са узорком маслаца пре и после сушења;

b – одмерена количина узорка.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

Разлика између резултата два одређивања која је извршио исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку, истом методом, у истим условима и у истој лабораторији, не сме бити већа од 0,1% релативне вредности.

б) Одређивање воде у маслацу методом испаравања

Принцип и примена

Ова метода се заснива на принципу испаравања воде на повишеној температури и мерењу разлике која се јавља у маси маслаца пре и после испаравања. Одређивање воде у маслацу методом испаравања врши се на специјалној ваги са скалом на којој се директно читава садржај воде у %. Одређивање воде у маслацу методом испаравања може се извршити и мерењем на аналитичкој ваги.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) специјална вага за директно одређивање процента воде, са посудicom, или аналитичка вага;
- 2) топлотни извор (пламеник или решо).

Поступак одређивања воде испаравањем

У претходно одмерену металну посуду специјалне ваге одмери се 10 g припремљеног узорка маслаца. Посуда са узорком лагано се загрева уз стално мешање тако да се изазове пенушање садржаја, али да не дође до прегревања или сагоревања. Испаравање воде се прекида кад се пена изгуби, појави мирис топљеног маслаца, односно жутосмеђа боја талога. Посуда се охлади, стави на вагу и директно прочита садржај воде у процентима. При коришћењу аналитичке ваге поступа се тако што се у суву одмерену чашу од 250 ml унесе 10 g припремљеног узорка маслаца и загрева на описани начин. Затим се охлађена посуда са узорком измери на аналитичкој ваги и израчуна се садржај воде у процентима.

Израчунавање

$$\text{Садржај воде у маслацу (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100$$

где је:

- a – маса посуде са узорком пре испаравања,
- b – маса посуде са узорком после испаравања,
- c – маса узорка маслаца за испитивање.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

6. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА МЛЕЧНЕ МАСТИ

Одређивање садржаја млечне масти млека и производа од млека је стручан посао, који захтева знање, искуство и прецизан рад.

Елементи који могу да доведу до грешке приликом одређивања садржаја млечне масти су:

- Неправилно узет узорак,
- Недовољна и неправилна хомогенизација узорка,
- Амил-алкохол није довољне чистоће,
- Сумпорна киселина није одговарајуће концентрације,
- Нечиста опрема за одређивање млечне масти,
- Неисправна пипета,
- Узорак у бутирометру није загреван, охлађен узорак при читавању,
- Избрисане ознаке на бутирометру.

6.1. Одређивање садржаја масти у млеку

Одређивањем садржаја масти у млеку обухватају се све врсте масти млека које се заједнички издвајају из млека током рутинских анализа млека. Има велики практични значај, а користи се и у научно – истраживачком раду. Раније се млеко плаћало на основу садржаја млечне масти, а такође то је један од првих параметара квалитета млека који се пратио у селекцији млечних грла. Садржај млечне масти може се одредити применом различитих метода (Герберова, метода по Ђакову, Новосал метода, Хојбергова метода, по Röse–Gottlieb-у и друге). У пракси су се као најподеснија показала метода по Герберу и метода по Röse–Gottlieb-у, која је и референтна метода.

6.1.1. Метода по Röse–Gottlieb-у – Гравиметријска метода

У међународном стандарду ISO 1211:2010/ IDF 1:2010 описано је извођење методе по Röse–Gottlieb-у, референтне методе за одређивање садржаја млечне масти.

Метода је применљива на сирово кравље, овчије и козије млеко, млеко са смањеним садржајем млечне масти, обрано млеко, хемијски конзервисано и прерађено течено млеко.

Принцип

Заснива се на разлагању адсорпционог слоја масних капљица тј. одвајању протеина млека амонијум – хидроксидом, после чега се маст екстрахује помоћу органских растварача - етра. Упаравањем или дестилацијом ових растварача, маст се одваја и маса одреди после сушења

Ова метода је прецизнија од Герберове (добијају се незнатно већи резултати) и других техничких метода, али је знатно тежа за извођење и много скупља. Зато је њена употреба само у случајевима где је потребна већа тачност од оне коју дају техничке методе.

6.1.2. Ацидобутирометријска метода по Герберу (рутинска метода)

Методу је први пут предложио Гербер 1892, године, а нешто касније (1893 и 1895) је усавршио. Назива се и ацидобутирометријска метода пошто се користи сумпорна киселина, а одређивање се врши помоћу бутирометара.

У стандарду SRPS ISO 19662:2020 Млеко – Одређивање садржаја масти – Ацидобутирометријска метода (метода по Герберу) и Правилнику о методама узимања узорака и методама физичких анализа млека и производа од млека (32/1983), наведена је ова метода за одређивање садржаја млечне масти у млеку. Примењује се за пуномасно или делимично обрано млеко, такође и за млеко које садржи дозвољене конзервансе (калијум-дихромат, бронопол). Не примењује се за млеко са формалином, нити за хомогенизовано млеко.

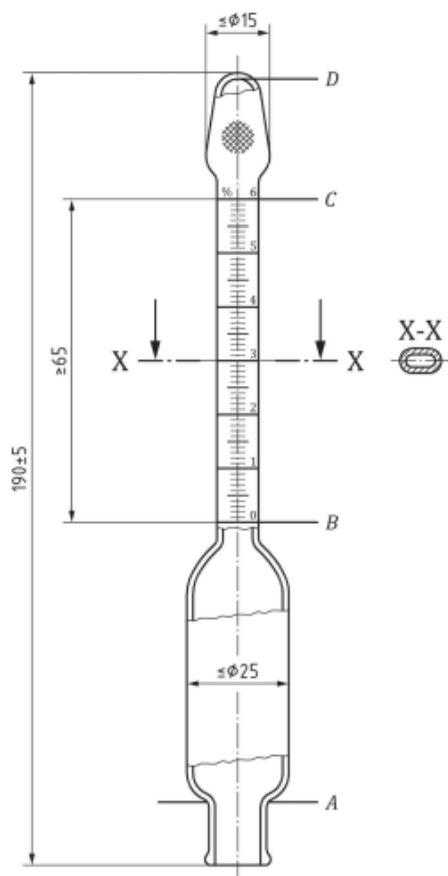
Овај метод се сматра за довољно тачан при рутинском одређивању садржаја млечне масти. Применом ове методе код млека које садржи од 3 до 5 g масти у 100 ml или 100 g, добија се садржај масти који је, након корекције за густину на 20 °C, еквивалентан оном добијеном помоћу гравиметријске референтне методе.

Принцип

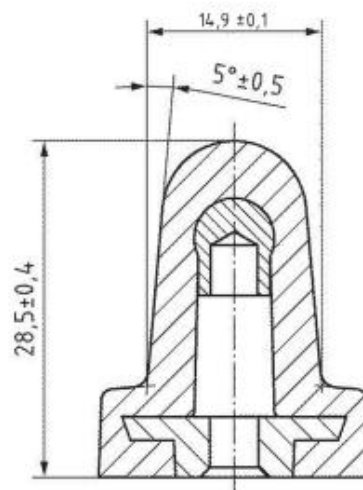
Метода се заснива на принципу растварања протеина млека сумпорном киселином одређене концентрације, при чему капљице млечне масти остају суспендоване у јако киселом раствору и издвајају се дејством центрифугалне силе. Употребом амил-алкохола смањује се површински напон и олакшава издвајање масти. Количина масти читава се директно на скали бутирометра, а изражава као број грама масти у 100 g млека (g/100 g).

Апаратура и прибор

1. Одговарајући бутирометар са чепом. Користити бутирометар са опсегом скале који најбоље одговара очекиваном садржају млечне масти у узорку;
2. Сталак за бутирометре;
3. Герберова центрифуга, са бројем обртаја од 1.000 - 1.200 у минути;
4. Пипета од 1 ml \pm 0,05 ml, за амил – алкохол;
5. Пипета од 10 ml \pm 0,2 ml за сумпорну киселину;
6. Пипета од 11 ml \pm 0,3 ml посебно профилисана за одређивање садржаја масти у млеку методом по Герберу, за изражавање садржаја масти у 100 ml млека или
7. Пипета од 10,75 ml \pm 0,3 ml посебно профилисана за одређивање садржаја масти у млеку методом по Герберу, за изражавање садржаја масти у 100 g млека;
8. Водено купатило, за потпуно држање бутирометара у вертикалном положају, на температури од 65 °C \pm 2 °C.



Слика 39. Бутирометар за млеко (SRPS ISO 19662) (димензије су у mm)



Слика 40. Чеп за бутирометар за млеко (SRPS ISO 19662) (димензије су у mm)

Реагенси

1) **Сумпорна киселина** ($\rho_{20} = 1,820 - 1,825 \text{ g/ml}$) припрема се на следећи начин: 1 литар концентроване сумпорне киселине $\rho_{20} = 1,840$ пажљиво се успе у 60 ml до 70 ml дестиловане воде, уз стално мешање и по потреби и хлађење. Увек сипати киселину у воду, а не обрнуто (воду у киселину). Приликом сипања воде у киселину, моментално се развија висока температура на малом простору, што изазива распрскавање киселине и може изазвати опекотине на телу и оделу. Суд у коме се припрема раствор сумпорне киселине, мора бити отпоран према вишим температурама. Припремљена сумпорна киселина се охлади на 20°C и провери густина. Ако густина не одговара, врши се корекција додавањем воде, односно концентроване сумпорне киселине;

2) **Амилалкохол** ($\rho_{20} = 0,811 \text{ g/ml}$ са тачком кључања 128°C до 130°C). Амил-алкохол се пре употребе мора проверити помоћу следеће пробе при којој се уместо млека користи дестилована вода. При том, амилалкохол у бутирометру не сме да издваја никакав слој који би био сличан масти.

Поступак одређивања масти

1. Обележавање бутирометра

На избрушеном делу главе бутирометра уписати број узорка;

2. Сипање реагенаса у бутирометар

- Аутоматском пипетом одмерити 10 ml припремљене сумпорне киселине, пазећи да на отвор бутирометра не падне ни једна кап;
- Специјално профилисаном пипетом сипати 11 ml претходно добро промешаног узорка млека. Грло бутирометра се не сме поквасити млеком како затварач не би испадао. Млеко се мора врло пажљиво сипати низ зид мало нагнутог бутирометра да би се избегло нагло мешање сумпорне киселине са млеком.
- Пипетом додати 1 ml амил-алкохола.

3. Затварање бутирометра

Бутирометар се затвори гуменим затварачем и неколико пута снажно промућка, а затим окрене два до три пута да би се измешао и део течности (сумпорна киселина) који се налази у суженом делу бутирометра. Приликом мућкања ствара се топлота, пошто сумпорна киселина (H_2SO_4) везује воду из млека. Створена топлота убрзава растварање беланчевина и издвајање масти.

4. Центрифугирање

Бутирометри се стављају у Герберову центрифугу, у одговарајућа лежишта, један наспрам другог, да би оптерећење центрифуге било равномерно, са чеповима окренутим према спољној страни центрифуге. Центрифугира се пет минута на 1000 до 1200 обртаја у минути.

5. Стављање бутирометра у водено купатило

После центрифугирања, бутирометар се извади и стави у водено купатило загрејано на 65 °C, и то са запушачем окренутим надоле. Ниво воде у купатилу мора бити изнад слоја масти у бутирометру. Бутирометар се остави у купатилу три до пет минута док садржај бутирометра достигне температуру од 65 °C, а затим се на скали бутирометра читава садржај масти у процентима.

6. Читање резултата

Издвојена млечна маст налази се у суженом делу бутирометра у коме је скала за обележавање процента масти. При читавању, бутирометар се мора држати усправно, са чепом окренутим надоле. Да би се олакшало читавање садржаја млечне масти у процентима, гранична линија између масти и осталог садржаја у бутирометру, померањем чепа, подеси се на подељак који означава цео број или нулу. Читавање се врши тако што се горњи менискус издвојене масти постави у висини очију. Процент масти означава број који се поклапа са најнижом тачком менискуса издвојене масти. На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

Разлика између резултата два одређивања која је извршио исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку, истом методом, у истим условима и у истој лабораторији не сме бити већа од 0,1% прочитане вредности.



Слика 41. Стуб издвојене млечне масти у бутирометру
(извор: <http://www.ag-lab.org/sites/default/files/pdf>)

7. Пражњење и прање бутирометра

Приликом пражњења садржаја из бутирометра треба водити рачуна да је H_2SO_4 још увек јачине око 50% и да течност из бутирометра има непријатан мирис.

Бутирометар треба опрати топлом водом са одговарајућим средством за прање и специјалном четкицом. Опрани бутирометри се стављају у сталак са грлићем окренутим надоле. Прању бутирометара треба обратити велику пажњу, јер ће се оно много теже извести ако се издвојена млечна маст пре пражњења охладила и згуснула.

6.1.3. Одређивање садржаја млечне масти у обраном млеку

За одређивање садржаја млечне масти у обраном млеку користе се бутирометри са скалом на којој се могу читавати стоти делови, при чему сваки подељак на скали одговара 0,01% масти. Бутирометар са обраним млеком центрифугира се два до три пута по пет минута. После сваког центрифугирања, бутирометар се држи пет минута у топлом купатилу.

6.1.4. Одређивање садржаја млечне масти инструменталним методама

Садржај масти у млеку може се одредити и помоћу специјалних апарата применом инфрацрвене спектрофотометрије, под условом да су ти апарати еталонирани према референтној методи.

6.2. Одређивање садржаја млечне масти код ферментисаних производа од млека

Садржај млечне масти у ферментисаним производима од млека (јогурт, кисело млеко, кефир и сл.) може се одредити методом по Герберу или методом по Röse – Gottlieb-у.

6.2.1. Метода по Герберу

Апаратура, прибор и реагенси

Принцип, апаратура, прибор и реагенси су исти као код одређивања садржаја масти у млеку, додатно је потребна пипета од 5 ml.

Поступак

1. У бутирометар за млеко сипати 10 ml сумпорне киселине,
2. Додати 5 ml добро измешаног узорка и 6 ml дестиловане воде истом пипетом којом је додат узорак,
3. Сипати 1 ml амилалкохола,
4. Даљи поступак је исти као код одређивања садржаја млечне масти у млеку,
5. Вредност очитана на скали бутирометра множи се са 2,2 јер је бутирометар за млеко калибрисан за 11 ml млека, а у њега је сипана 2,2 пута мања запремина ферментисаног млека.

6.2.1. Метода по Röse – Gottlieb-у

Садржај млечне масти у ферментисаним млечним производима по методи Röse – Gottlieb-а, исти је као код одређивања садржаја млечне масти у млеку и користи се исти прибор и реагенси.

6.3. Одређивање садржаја млечне масти код павлаке

Садржај млечне масти у павлаци може се одредити методом по *Röse – Gottlieb*-у (референтна метода) и рутинском методом по Гербер-у.

6.3.1. Метода по Герберу

Принцип

Садржај млечне масти у павлаци одређује се по истом принципу као и код млека, али коришћењем специјалних бутирометара за павлаку.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) бутирометар за павлаку;
- 2) пипете од 10 ml и 1 ml (као за млеко);
- 3) пипете са проширењем од 5 ml;
- 4) градуисане пипете од 10 ml;
- 5) водено купатило.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) сумпорна киселина ($p_{20} = 1,820$ до $1,825$ g/ml);
- 2) амил алкохол ($p_{20} = 0,811$ g/ml) са тачком кључања од 128 °C до 130 °C (проверено слепом пробом)

Поступак одређивања масти

Припремљени узорак павлаке, после загревања у воденом купатилу на 30 °C до 40 °C (да се избаци ваздух), охлади се на 20 °C. У бутирометар се одмери пипетом 10 ml сумпорне киселине и дода 5 ml павлаке. Пипета којом је одмерена павлака испере се са 5 ml воде, тако што се кроз њу пропушта вода из друге пипете. При том се пипета којом је мерена павлака непрестано окреће да би се добро испрала. Потом се у бутирометар дода 1 ml амил-алкохола и даље поступа као приликом одређивања масти у млеку по методи која је прописана правилником.

На бутирометру за павлаку нула скале налази се на горњем делу и при читавању резултата најнижа тачка менискуса мора се подесити на нулу. Резултат представља вредност граничног слоја масти и осталог садржаја у бутирометру.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

6.3.2. Метода по *Röse – Gottlieb*-у

Садржај масти одређује се гравиметријски после додатка амонијака и алкохола одређеној количини павлаке, екстакције масти и липидних супстанци погодним растварачем и након упаравање растварача.

Користи се исти прибор и реагенси као при одређивању садржаја масти у млеку методом по *Röse – Gottlieb*-у.

6.4. Одређивање садржаја млечне масти код сирева

Маст у сиру и топљеном сиру може се одредити применом референтне методе и ацидобутирометријском методом по van Gulik-у.

6.4.1. Референтни метод (IDF/ISO/AOAC)

Садржај масти одређује се гравиметријски мерењем резидуа након дигестије сира хлороводоничном киселином, екстракције масти из кисело-алкохолног раствора и евапорације растварача по принципу Schmidth-Bonzynski-Ratzlaff-a.

6.4.2. Метода по van Gulik-у

Принцип

Ацидобутирометријски метод за одређивање масти у сиру, заснива се на истом принципу као и испитивање масти у млеку по Герберу, али није толико прецизна као референтна метода.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) бутирометар за сир;
- 2) пипета од 10 ml и пипета од 1 ml;
- 3) аналитичка вага;
- 4) водено купатило.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) сумпорна киселина ($p_{20} = 1,53 \text{ g/ml}$),
- 2) амил-алкохол ($p_{20} = 0,811 \text{ g/ml}$) са тачком кључања од $128 \text{ }^{\circ}\text{C}$ до $130 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (пре употребе проверен слепом пробом. Амил-алкохол не сме да издваја никакав слој течности који би био сличан масти).

Поступак одређивања масти

У чашицу која је причвршћена за запушач бутирометра, одмери се тачно 3 g припремљеног и добро промешаног узорка сира и унесе у бутирометар. Са горње стране бутирометра унесе се пипетом одмерених 10 ml сумпорне киселине и бутирометар загрева у воденом купатилу на $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ уз повремено мућкање, да се беланчевине сира сасвим растворе. Бутирометар се при том не сме окретати, јер би честице сира доспеле у сужени део.

Ниво воде у воденом купатилу мора бити изнад нивоа слоја масти у бутирометру. Кад се беланчевине растворе, у бутирометар се унесе 1 ml амил-алкохола и поново промућка неколико пута. Потом се кроз горњи отвор бутирометра дода онолико сумпорне киселине колико је потребно да горњи менискус достигне број 35 на скали. Бутирометар се промућка и центрифугира 10

минута на 1000 до 1200 обртаја у минути. Загревање у воденом купатилу и центрифугирање бутирометра понови се још два пута, а затим се на скали бутирометра очита садржај млечне масти у процентима.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

6.5. Одређивање садржаја млечне масти у маслацу

Садржај млечне масти у маслацу може се одредити ацидобутирометријском методом по Герберу или референтном методом, којом се истовремено одређује вода и садржај суве материје без масти и маст.

6.5.1. Метода по Герберу

Принцип

Садржај млечне масти у маслацу одређује се по методи Гербера-а коришћењем специјалних бутирометара за маслац.

Апарати и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) специјални бутирометар за маслац;
- 2) аналитичка вага;
- 3) водено купатило;
- 4) центрифуга по Герберу;
- 5) пипета од 1 ml и од 20 ml.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) сумпорна киселина ($\rho_{20} = 1,50 \text{ g/ml}$),
- 2) амил-алкохол ($\rho_{20} = 0,811 \text{ g/ml}$) са тачком кључања од $128 \text{ }^{\circ}\text{C}$ до $130 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (пре употребе проверен слепом пробом, амил-алкохол не сме да издваја никакав слој течности који би био сличан масти).

Поступак

- У чашицу бутирометра одмерити 5 g узорка маслаца, са тачношћу 0,001 g,
- Бутирометар се са доње стране затвори запушачем (на којем је чашица са одмереним масломем),
- Кроз горњи отвор бутирометра додати 20 ml сумпорне киселине и 1 ml амил алкохола,
- Садржај се добро измеша да би се беланчевине раствориле. Ниво течности у бутирометру мора да достигне подељак на скали који означава број 70, а ако не достигне тај подељак, додаје се сумпорна киселина док не достигне ниво означен на скали,
- Бутирометар се загрева у воденом купатилу на температури 55 до 65 $^{\circ}\text{C}$, 5 мин., односно док се маст не раствори и издвоји на површини,
- Промућкати и даље радити као код анализе млека тј. центрифугирати 5 минута,
- Садржај масти у маслацу читава се директно са скале бутирометра у процентима.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два одређивања.

6.5.2. Одређивање садржаја масти код маслаца IDF/ISO/AOAC

Из припремљеног узорка маслаца истовремено се одређује садржај воде, сува материја без масти и садржај масти у маслацу. У сушници, на 102 ± 2 °C, узорак се суши до константне масе. Добија се садржај воде и суве материје (СМ) маслаца. Из осушеног маслаца петрол-етром се екстрахује и мери остатак, сува материја без масти (СМБМ). Масени проценат масти у маслацу добија се емпиријском једначином након израчунавања садржаја СМ и СМБМ.

7. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА ПРОТЕИНА У МЛЕКУ

У млеку се налазе протеинске – NP (94-95%) и непротеинске азотне – NPN (5-6%) материје. Садржај протеина у млеку се најчешће одређује на основу укупног садржаја азота. Кјелдалова (Kjeldahl) метода се универзално примењује за одређивање садржаја азота, а затим се садржај протеина добија рачунским путем множењем укупног азота одговарајућим фактором (6,38).

Стандардом *SRPS EN ISO 8968-1 Млеко и производи од млека – Одређивање садржаја азота – Део 1. Метода по Кјелдалу и израчунавање сирових протеина* - Овим међународним стандардом утврђује се метода за одређивање садржаја азота и израчунавање сирових протеина у млеку и производима од млека применом принципа по Кјелдалу, помоћу традиционалне методе разарања и методе разарања у блоку.

Метода је примењива за:

- течно кравље млеко (пуномасно, делимично обрано и обрано), и течно пуномасно козје и овчије млеко;
- тврди, полутврди и топљени сир;
- млеко у праху и производе од млека у праху (укључујући почетне формуле за одојчад, концентрат млечних протеина, концентрат протеина сурутке, казеин и казеинате).

7.1. Одређивање укупног азота методом по Кјелдалу

Принцип

Метода се састоји од три корака: дигестије, дестилације и титрације. Део узорка за испитивање разара се смешом концентроване сумпорне киселине и калијум-сулфата. Користи се бакар (II) - сулфат као катализатор, да би се помоћу њега сав присутни органски азот превео у амонијум-сулфат. Намена калијум-сулфата је да повиси тачку кључања сумпорне киселине и да обезбеди јачу оксидациону смешу за разарање. Вишак натријум-хидроксида додаје се у охлађени, разорени узорак да би се ослободио амонијак. Ослобођени амонијак дестилује се паром и уводи у вишак раствора борне киселине, а затим титрише стандардим волуметријским раствором хлороводоничне киселине. Садржај азота се израчунава из количине добијеног амонијака.

Реагенси:

- Калијум-сулфат (K_2SO_4), без азота,
- Раствор бакар(II)-сулфата-пентахидрата, $c(CuSO_4 \cdot 5H_2O) = 5,0 \text{ g}/100 \text{ ml}$,
- Раствор натријум-хидроксида (NaOH), без азота, који садржи 50 g натријум-хидроксида у 100 g раствора,
- Сумпорна киселина (H_2SO_4), са масеним уделом од 95% до 98%, без азота ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g}/\text{ml}$, приближно),
- Стандардни волуметријски раствор хлороводоничне киселине, $c(HCl) = (0,1 \pm 0,0005) \text{ mol}/\text{l}$,
- Индикатор 0,05% раствор метил-црвеног,
- Раствор борне киселине, $c(H_3BO_3) = 40,0 \text{ g}/\text{l}$,
- Амонијум-сулфат $[(NH_4)_2SO_4]$, минималне чистоће од 99,9% (масени удео) у сувој материји,
- Триптофан ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) или лизинхидрохлорид ($C_6H_{15}ClN_2O_2$), минималне чистоће од 99% (масени удео),
- Сахароза, са масеним уделом азота од највише 0,002%.

Апарати и прибор

- Аналитичка вага;
- Водено купатило;
- Решо за дигестију у који се ставља Кјелдалов балон;
- Апарат за разарање;
- Апаратура за дестилацију (традиционална метода);
- Блок за разарање (за методу разарања у блоку);
- Кјелдалов балон 500 ml;
- Ерленмајер 500 ml;
- Мензуре од 25, 50, 100 и 150 ml;
- Бирета или аутоматска пипета, која може да испушта раствора бакар-сулфата у количинама од по 1,0 ml;
- Аутоматска бирета.

Поступак:

1. Разарања

У Кјелдалов балон ставити неколико стаклених перли или комадића порцелана, а затим додати око 15 g калијум сулфата, 1 ml раствора бакар (II) - сулфата и припремљеног узорка за испитивање (5 g млека). Додати 25 ml концентроване сумпорне киселине, промешати и загревати на решоу за дигестију све док се садржај у балону не избистри. Укупно време потребно за разарање биће између од 1 до 2,5 h, охладити на собну температуру и додати око 300 ml дестиловане воде, неколико комада пловућца, промешати и оставити да се охлади.

2. Дестилације

Кроз кондензатор апаратуре за дестилацију пусти се вода. У разблажени разорени узорак дода се 75 ml раствора натријум-хидроксида пажљивим сипањем раствора низ нагнуто грло балона за разарање да би се формирао слој на дну балона. Треба да постоји јасан гранични слој између два раствора. Да би се смањила могућност губитка амонијака, одмах по додавању раствора натријум-хидроксида балон за разарање се брзо повеже са апаратуром за дестилацију при чему се врх излазне цеви кондензатора урони у 50 ml раствора борне киселине која се налази у конусном балону. Балон за разарање се енергично врти како би се његов садржај потпуно промешао, све док раздвојени слојеви раствора нису више видљиви. Горионик генератора паре се укључи на позицију која је довољна да садржај балона за разарање кључа. Дестилација се настави до појаве неравномерног кључања (уз прштање), а затим се балон за разарање одмах раздвоји од апаратуре и горионик искључи. Затвори се довод воде у кондензатор. Водом се исперу унутрашња и спољашња страна врха излазне цеви, при чему се течност од испирања сакупља у конусном балону и меша. Брзина дестилације мора да буде таква да се пре почетка неравномерног кључања (уз прштање) сакупи приближно 150 ml дестилата. Укупна запремина садржаја конусног балона биће приближно 200 ml. Уколико је запремина сакупљеног дестилата мања од 150 ml, вероватно је додато мање од 300 ml воде за разблаживање разореног узорка. Ефикасност кондензатора мора да буде таква да температура садржаја конусног балона не прелази 35 °C током дестилације, када се за одређивање завршне тачке титрације користи промена боје.

3. Фаза титрације

Дестилат се титрише са 0,1 mol/l раствором хлороводоничне киселине. Садржај конусног балона титрише се стандардним волуметријским раствором хлороводоничне киселине помоћу бирете. Завршна тачка се постиже када се појави први траг ружичасте боје у садржају. Одређује се количина везане HCl.

4. Слепа проба

Потребно је поновити цео поступак користећи 5 ml дестиловане воде и око 0,85 g сахарозе уместо узорка млека.

Садржај азота у узорку за испитивање, израчунава се коришћењем формуле:

$$w_n (\%) = \frac{(V_1 - V_0) \times C \times 1,4007}{m}$$

w_n – садржај укупног азота, изражен као масени удео у процентима,

V_1 – бројчана вредност запремине стандардног волуметријског раствора хлороводоничне киселине коришћене за одређивање у милилитрима, изражена са тачношћу од најмање 0,05 ml;

V_0 – бројчана вредност запремине стандардног волуметријског раствора хлороводоничне киселине коришћене за следеће пробае, у милилитрима, изражена са тачношћу од најмање 0,05 ml

C – концентрација HCl (0,1 mol/l)

m – бројчана вредност масе дела узорка за испитивање у грамима, изражена са тачношћу од 0,1 mg

Садржај сирових протеина

Садржај сирових протеина, w_p , израчунава се коришћењем формуле:

$$w_p = w_n \times 6,38$$

где је:

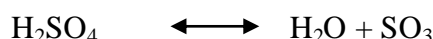
w_p - садржај сирових протеина, изражен као масени удео у процентима;

w_n - садржај азота у узорку,

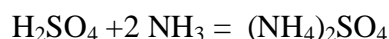
6,38 - општеприхваћен фактор за множење, да би садржај азота био изражен као садржај сирових протеина млека.

Хемијске реакције

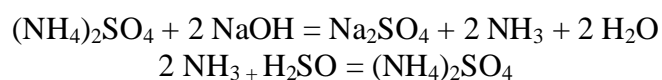
Концентрирана сумпорна киселина на нижој температури угљенише органске супстанце тј. одузима им водоник и кисеоник. На вишој температури концентрирана сумпорна киселина дисосује на воду и сумпортриоксид.



Настали SO_3 оксидише угљеник на CO_2 што се види по настајању црне боје у балону. Потпуна оксидација угљеника познаје се по бистром и прозачном садржају балона. Угљеник оксидише у CO_2 , а водоник у H_2O , а сумпор у SO_2 , док се амонијак органског једињења везао са сумпорном киселином:



Да би се издвојио амонијак из амонијум сулфата додаје се јака база NaOH, а ослобођени амонијак после дестилације се везује у сумпорној киселини:



Или ако се користи HCl: $\text{NH}_3 + \text{HCl} = \text{NH}_4\text{Cl}$

7.2. Модификован метод по Кјелдалу

За одређивање укупних протеина у млеку често се користи и модификован метод по Кјелдалу.

Поступак:

У Кјелдалов балон се одмери 10 g млека, дода 25 g концентроване сумпорне киселине и око 0,5 g катализатора. Садржај балона треба спалити на решоима за дигестију. Додати највише 200 ml воде, промешати и оставити да се охлади.

У ерленмајер додати 50 ml 0,1 mol/l раствор HCl или 0,05 mol/l раствор H₂SO₄ и 4 капи индикатора и промешати. Затим ерленмајер ставити испод кондензатора тако да му је цев уроњена у раствор киселине. Пре почетка дестилације дода се око 80 ml 40% раствора натријум – хидроксида.

Даљи поступак дестилације је исти као код референтног метода по Кјелдалу. Дестилат се титрише са 0,1 mol/l раствором NaOH.

Садржај укупног азота рачуна се по следећој формули:

$$\text{TN (\%)} = \frac{(V_1 - V_0) \times C \times 1,4008}{m}$$

TN – садржај укупног азота

V₁ – број ml HCl утрошене за везивање амонијака (ml)

V₀ – број ml HCl утрошене за титрацију дестилата (ml)

C – концентрација HCl (0,1 mol/l)

m – одмерена маса млека (g)

7.3. Одређивање садржаја казеина у млеку

Принцип:

Одређивање садржаја казеина у млеку заснива се на особини казеина да као амфотерно једињење коагулише и преципитира дејством разблажених киселина при изоелектричној тачки $pH=4,6$. У изоелектричној тачки казеин је најнерастворљивији и тада долази до његовог најбржег и најпотпунијег таложења.

Потребно је прво одредити садржај протеина у млеку, а затим садржај казеина. Казеин се исталожи додавањем сирћетне киселине и натријум-ацетата (пуферни раствор), одваја се филтрирањем, а у филтрату се одреди садржај неказеинског азота (NKN). Количина укупног казеина представља разлику количине укупног азота и неказеинског азота одређених методом по Кјелдалу. Овај метод се користи за одређивање количине казеина у свежем млеку и млеку конзервисаним формалдехидом (1:2500).

Апарати и прибор

- Пипете од 0,5 ml, 1 ml и 10 ml;
- Мензура од 100 ml;
- Нормални суд од 100 ml;
- Квалитативни филтер папир;
- Стаклени левак.

Реагенси:

- 10% раствор сирћетне киселине;
- 1 mol/l раствор натријум-ацетата

Поступак

Пре анализе узорак млека промешати, а уколико се на површини издвојио слој масти потребно је млеко постепено загрејати на $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, а затим охладити на $20\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Потребно је прво одредити садржај укупног азота у млеку, Кјелдал-овом методом, а затим одпипетирати 10 ml млека у нормалан суд од 100 ml, додати 25 ml дестиловане воде загрејане на $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 1 ml раствора сирћетне киселине. Снажно промешати и оставити да стоји 10 минута, а затим додати 1 ml раствора натријум-ацетата и поново промешати. Садржај охладити на $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и допунити до 100 ml дестилованом водом, затим снажно измешати. Када се талог масти и протеина потпуно исталожи на дну нормалног суда, филтрирати кроз квалитативни филтер папир у суву боцу. Узети 50 ml бистрог филтрата и одредити садржај неказеинског азота по Кјелдал-овој методи.

Слепа проба

Да би проверили реагенсе који се користе за таложење казеина ради се слепа проба и то коришћењем 50 ml воде, 0,5 ml раствора сирћетне киселине и 0,5 ml раствора натријум-ацетата на исти начин као са узорком млека.

Добијена вредност неказеинског азота коригује се множењем фактором 0,994 код пуномасног млека, односно фактором 0,998 код обраног млека.

Садржај казеина у млеку рачуна се према формули:

$$\text{Казеин (\%)} = (\text{TN} - \text{NKN}) \times 6,38$$

TN – укупни азот

NKN – неказеински азот

Разлика између резултата одређивања садржаја казеина у две пробе истог узорка који је анализирао један аналитичар на истој апаратури у кратком временском интервалу може бити већа за највише 0,04 g/100 g од просека у само једном од 20 случајева.

7.4. Одређивање садржаја неказеинског азота у млеку

Принцип

Садржај неказеинског азота у млеку чини збир садржаја албумина и глобулина, протеоза – пептона и непротеинског азота. Третирање млека 10% раствором сирћетне киселине и потом 1 mol/l раствором натријум-ацетата долази до преципитације казеина. У филтрату се одрђује неказеински азот стандардном Кјелдал-овом методом.

Апарати и прибор

- Трбушаста пипета од 1 ml и 10 ml;
- Мензура од 100 ml;
- Ерленмајер од 100 ml;
- Квалитативни филтер папир;
- Аналитичка вага.

Реагенси:

- 10% раствор сирћетне киселине
- 1 mol/l раствор натријум-ацетата

Поступак

Одмерити 10 ml млека у ерленмајер и измерити масу млека на аналитичкој ваги. Додати 80 ml воде загрејане на 40 °C и 1 ml раствора сирћетне киселине, капима. Измешати и оставити да одстоји 10 минута, а затим додати 1 ml раствора натријум-ацетата и поново измешати. Када се казеин исталожи, талог одвојити филтрирањем у Кјелдалов балон. Одредити количину неказеинског азота методом по Кјелдал-у.

Садржај неказеинског азота израчунава се по следећој формули:

$$\text{NKN (\%)} = \frac{(V_1 \times c_1 - V_2 \times c_2) \times 1,4008}{m}$$

NKN – садржај неказеинског азота

V_1 – запремина раствора HCl (ml)

c_1 - концентрација раствора HCl (0,1 mol/l)

V_2 – запремина раствора NaOH (ml)

c_2 – концентрација раствора NaOH (0,1 mol/l)

m – маса узорка (g)

Дозвољено одступање између два упоредна одређивања количине неказеинског азота може да буде $\pm 0,2\%$.

7.5. Одређивање садржаја непротеинског азота у млеку

У млеку се поред протеинског азота, који чини око 94-95% од укупног азота млека, налазе и непротеинске азотне материје.

Принцип

У циљу утврђивања садржаја непротеинског азота у млеку потребно је издвојити све протеинске фракције у млеку додавањем 24% раствора трихлорсирћетне киселине (ТСА), а затим се количина непротеинског азота одређује методом по Кјелдал-у.

Апарати и прибор

- Пипета од 5 ml и 10 ml;
- Лабораторијска чаша од 50 ml;
- Филтер папир, *Whatman* N°42;
- Аналитичка вага.

Реагенси:

- 12% раствор трихлорсирћетне киселине (ТСА),
- 24% раствор трихлорсирћетне киселине (ТСА),

Поступак

Отпипетирати 10 ml млека у лабораторијску чашу, а затим на аналитичкој ваги измерити масу узорка млека. Додати 5 ml 24% раствора ТСА, промешати и оставити 30 минута. Профилтрирати кроз суви *Whatman* филтер папир, директно у Кјелдал-ов балон. Лабораторијску чашу испрати два пута са по 10 ml 12% раствора и профилтрирати кроз исти филтер папир у исти Кјелдал-ов балон. Филтрат мора бити бистар, уколико није мора се рефилтрирати.

Даљи поступак одређивања садржаја непротеинског азота у млеку у филтрату је по модификованом поступку за одређивање укупног азота у млеку Кјелдал-овом методом.

Садржај непротеинског азота (NPN) у млеку израчунава се по следећој формули:

$$\text{NPN (\%)} = \frac{(V_1 \times c_1 - V_2 \times c_2) \times 0,14008}{m}$$

NPN – садржај непротеинског азота

V_1 – запремина раствора HCl (ml)

c_1 - концентрација раствора HCl (0,1 mol/l)

V_2 – запремина раствора NaOH (ml)

c_2 – концентрација раствора NaOH (0,1 mol/l)

m – маса узорка млека (g)

Дозвољено одступање између одређивања NPN у две пробе истог узорка је $\pm 0,5\%$.

На основу одређивања укупног садржаја азота (TN), неказеинског азота (NKN) и непротеинског азота (NPN) може се одредити садржај различитих азотних фракција у млеку:

$$\text{Казеин} = (\text{TN} - \text{NKN}) \times 6,38 (\%)$$

$$\text{Прави протеин} = (\text{TN} - \text{NPN}) \times 6,38 (\%)$$

$$\text{Протеини сурутке} = (\text{TN} - \text{NPN}) \times 6,38 - \text{казеин} (\%)$$

7.6. Одређивање садржаја протеина, казеина и урее у млеку инструменталним методама

Садржај протеина, казеина и урее (као део непротеинске азотне фракције) у млеку може се одредити и инструменталним методама применом инфрацрвене спектрофотометрије, под условом да су инструменти на којима се врши анализа узорака млека еталонирани према референтној методи.

8. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА ЛАКТОЗЕ У МЛЕКУ

Лактоза – млечни шећер, је дисахарид, који се састоји од молекула глукозе и галактозе. Садржај лактозе у млеку је релативно константан и креће се у границама од 4,7 до 4,9%. Нижи садржај лактозе од 4,69% у стадном млеку (из лактофриза) указује на распрострањеност субклиничког маститиса на фарми. Одређивање садржаја лактозе врши се у свежем млеку, јер током стајања млека долази до разлагања лактозе.

Уобичајене методе за одређивање лактозе у млеку укључују гравиметријску анализу, гасну хроматографију и течну хроматографију високих перформанси (HPLC). Ове методе су дуготрајне, потребни су одговарајући реагенси и сложене за “online” анализу. Ово је разлог за развој нових техника. Данас су у анализи млека најзаступљенији инструменти који користе Фуријерову трансформацију у инфраред спектру (FTIR технологија), која омогућава анализу више параметара млека из једног узорка. Најчешће се одређује садржај протеина, млечне масти и лактозе.

Стандардом SRPS ISO 22662:2013 Млеко и производи од млека — Одређивање садржаја лактозе течном хроматографијом високе перформансе (референтна метода) -утврђена је метода за одређивање садржаја лактозе у сировом млеку, млеку у праху, као и сировој и пастеризованој павлаци. Метода се не примењује за ферментисана млека и млека којима су додати олигосахариди.

Стандард ISO 26462|IDF 214:2010 Млеко — Одређивање садржаја лактозе — Ензимска метода коришћењем разлике у рН – прецизира ензимску методу за одређивање садржаја лактозе у млеку и реконституисаном млеку мерењем разлике у рН (диференцијално мерење рН).

8.1. Одређивање садржаја лактозе титриметријски

Принцип

Садржај лактозе представља количину лактозе монохидрата израженог у масеним процентима. Метод се заснива на реакцији лактозе и хлорамин-Т-калијум-јодида при чему се лактоза индиректно титриметријски одређује преко количине редукованог халогена.

Апаратура и прибор

1. Аналитичка вага,
2. Нормални суд од 100 ml,
3. Пипете од 5, 10, 20, 25 и 40 ml,
4. Квалитативни филтер-папир (испан киселином, пречника 11-12,5 cm),
5. Левак,
6. Ерленмајер од 150 и 200 ml,
7. Ерленмајер са брушеним запушачем, 150 ml,
8. Бирета, 10 ml, са подеоцима од 0,02 ml.

Реагенси

1. Раствор волфрамске киселине (7 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (натријум-волфрамата два хидрата) растворити у 870 ml дестиловане воде и раствору додати 0,1 ml концентроване фосфорне киселине (H_3PO_4) и 70 ml 0,5 mol/l сумпорне киселине,
2. 0,5 mol/l раствор сумпорне киселине (49,03 g концентроване сумпорне киселине помешати са 1 l дестиловане воде),
3. 0,04 mol/l раствор хлорамина Т (5,7 g хлорамина Т растворити у нормалном суду од 1 l дестилованом водом),
4. 0,04 mol/l раствор натријум-тиосулфата – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (9,9276 g натријум-тиосулфата пет хидрата - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$, растворити у 1 l дестиловане воде,
5. Корекција концентрација (k) 0,04 mol/l натријум-тиосулфата одредити титрацијом 10 ml 0,008 mol/l раствора калијум-јодата коме је додато 5 ml 10% раствора калијум-јодида и 5 ml 2 mol/l раствора хлороводоничне киселине (HCl),

$$k = \frac{10}{\text{Запремина } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$$

6. 0,008 mol/l раствора калијум-јодата (1,1712 g калијум-јодата растворити у 1 l дестиловане воде),
7. 2 mol/l раствор хлороводоничне киселине (61,797 ml концентроване HCl разблажити у нормалном суду до 1 l дестилованом водом),
8. Раствор скроба (1 g скроба помешати са 10 ml хладне воде уз стално мешање, добијену смешу додати у виду танког млаза у 90 ml кључале воде. Топао раствор профильтрирати, пренети у боцу и затворити.

Поступак

У нормални суд од 100 ml сипати 10 ml узорка млека, 25 ml воде, 40 ml волфрамске киселине и промешати. Допунити дестилованом водом до црте, промешати и оставити да се сталожу. Филтрирати кроз филтер папир у суви ерленмајер.

У ерленмајер са брушеним затварачем од 150 ml сипати 10 ml филтрата, додати 5 ml калијум-јодида и 20 ml раствора хлорамина Т.

Чеп ерленмајера умочити у раствор калијум-јодида. Затворити ерленмајер и оставити 1,5 h на тамном месту на 18-20 °C. Затим отворити ерленмајер, опрати чеп са малом количином воде и додати 5 ml раствора хлороводоничне киселине.

Садржај у ерленмајеру титрисати раствором натријум-тиосулфата из бирете. Након додавања 10 ml раствора натријум-тиосулфата накапати 2-3 капи раствора скроба и наставити титрацију док се садржај не обезбоји.

Паралелно треба урадити још једну пробу по истој процедури, узимајући уместо филтрата 10 ml дестиловане воде.

Обично се за млеко утроши 12 до 13,5 ml раствора натријум-тиосулфата, а за слепо пробу 19,5 до 19,7 ml истог раствора.

Садржај лактозе монохидрата у млеку израчунава се по следећој формули:

$$L = \frac{(V_1 - V) \times k \times 7,2 \times 0,99}{m} \quad (\%)$$

Где је:

V_1 - запремина раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ утрошеног за титрацију следеће пробе (ml)

V - запремина раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ утрошеног за титрацију филтрата млека (ml)

k - корекција концентрације 0,04 mol/l раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

m - маса млека (g)

7,2 - количина лактозе монохидрата која одговара 1 ml 0,04 mol/l раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ помноженог са 1000

0,99 - корекција за запремину талога млека

8.2. Одређивање садржаја лактозе гравиметријски

Принцип

Лактоза, као редукујући шећер, редукује Фелингов раствор стварајући талог бакар (I)-оксида. Маса талоба директно зависи од масе лактозе у испитиваном млеку.

Апаратура и прибор

1. Сушница (105 °C),
2. Аналитичка вага,
3. Стаклени гуч,
4. Нормални суд од 100 ml,
5. Ерленмајер од 200 ml,
6. Пипете од 2, 10, 25, 50 и 200 ml,
7. Сахатно стакло,
8. Квалитативни филтер папир.

Реагенси

1. Раствор калијум-хексацијаноферата (II) (150 g калијум-хексацијаноферата (II) допунити дестилованом водом до 1 l),
2. Раствор цинк-сулфата (300 g ZnSO₄ допунити дестилованом водом до 1 l),
3. Раствор Фелинг I (69,26 g чистог бакар (II) сулфата - CuSO₄ x 5H₂O, растворити и допунити дестилованом водом до 1 l),
4. Раствор Фелинг II (346 g калијум-натријум-тартарата и 103,2 g натријум хидроксида растворити и допунити дестилованом водом до 1 l),
5. Диетил-етар,
6. Алкохол

Поступак

У нормалан суд од 100 ml сипати 10 ml млека, разблажити са око 50 ml воде. Уз интензивно мешање додати 2 ml раствора калијум-хексацијаноферата (II) и 2 ml раствора цинк-сулфата. Допунити до црте дестилованом водом и филтрирати кроз сув филтер-папир.

У ерленмајер додати по 25 ml раствора Фелинг I и Фелинг II и 60 ml воде, а затим садржај загревати до кључања. У раствор додати 40 ml филтрата, садржај поклопити сахатним стаклом. После кључања у трајању од 6 минута (рачунато од прве појаве талоба), скинути ерленмајер и садржај филтрирати кроз стаклени гуч прикључен на вакуум. Ерленмајер испрати врелом дестилованом водом. Садржај поново пренети на стаклени гуч и настали талог бакар (I) оксида испрати алкохолом и диетил-етром и затим сушити 20 минута у сушници.

Количина лактозе израчунава се на основу података да маси од 100 mg бакар (I) оксида одговара 46,3 mg инвертног шећера или 63,4 mg лактозе монохидрата.

9. ОДРЕЂИВАЊЕ ПЕПЕЛА

Подаци о садржају минералних материја се најчешће приказују процентуалним садржајем пепела. Из пепела се добијају подаци о количини појединих минералних материја у млеку. У млеку се налази око 0,7% (0,6 - 0,8%) пепела, што представља садржај минералних материја од 0,9%. Уколико се количина пепела изрази у процентима суве материје, добија се вредност већа од 5%, што показује да је млеко богато минералним материјама.

Садржај минералних материја у млеку најмање подлеже варијацијама под утицајем разних спољашњих и унутрашњих фактора. Минералне материје се у млеку налазе као разне органске и неорганске соли, али је уобичајено да се њихова количина исказује садржајем пепела, где се углавном јављају као оксиди.

Принцип

Млеко се упари и минерализује на 550 °С. Додатак магнезијум-ацетата олакшава минерализацију и везује испарљиве састојке посебно једињења хлора, фосфора и сумпора.

Апарати и прибор

1. Пећ за жарење (550 °С),
2. Сушница (105 °С),
3. Аналитичка вага,
4. Плински тигл са одговарајућим поклопцем или сахатним стаклом,
5. Пипета 20 ml.

Реагенси

- 1 mol/l раствор магнезијум-ацетата (раствори се 215 g магнезијум ацетата – $Mg(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$, са дестилованом водом до 1 l раствора; у циљу конзервације раствора додаје се пар капи формалдехида).

Поступак

Платински тигл са поклопцем жари се 30 минута у пећи за жарење на температури од 550 °С. У охлађен тигл, на собну температуру и измерен на аналитичкој ваги, дода се 20 ml млека и 10 ml раствора магнезијум - ацетата. Садржају у тиглу дода се и пар капи алкохола у циљу спречавања стварања скраме, а затим се упарава у воденом купатилу или сушници. Упарен садржај се затим потпуно осуши у сушници, млеко мења боју преко жуте до мрке.

Осушен узорак се угљенише у пећи за жарење на 400 °С у трајању од 30 минута. Угљенисану масу овлажити са неколико капи воде, скинути са зида тигла стакленим штапићем и сушити у сушници.

Тигл поново пребацити у пећ за жарење, где се претходно повећа температура на 550 °С, у трајању од 1 до 1,5 сат. Пепео треба да има белу или

незнатно сиву боју. Ако се и након овог времена приметите угљенисани парчићи поново испрати узорак водом. Мешати стакленим штапићем, сушити, жарити, охладити у ексикатору и мерити.

Паралелно са узорком потребно је урадити и слепу пробу. За слепу пробу упарити 10 ml раствора магнезијум-ацетата до сувог и минерализовати на 550 °C, а затим измерити.

Садржај пепела у млеку (P) у % израчунава се по формули:

$$P = \frac{100 \times (a - b)}{m}$$

a – маса пепела у узорку (g)

b – маса пепела у слепој проби (g)

m – маса узорка (g)

Резултат се изражава у процентима на две децимале. Максимално дозвољено одступање између две пробе истог узорка је 0,02%.

10. ПРИМЕНА ИНСТРУМЕНТАЛНИХ МЕТОДА У АНАЛИЗИ МЛЕКА

Под инструменталним методама хемијских анализа подразумевају се мерења физичких особина неке супстанце у циљу одређивања њеног хемијског састава. Скоро свака особина неког једињења може да послужи као основа за развијање инструменталне методе анализе. Мерењем специфичне физичке особине неке супстанце може се директно одредити њен састав.

Инструменталне методе анализе пронашле су своју примену у свим областима прехранбене индустрије, па и у млекарској. За одређивање хемијског састава млека преко његових физичких особина користе се следеће инструменталне методе: турбидиметрија, колориметрија, спектрофотометрија у инфрацрвеној области зрачења, рефрактометрија и полариметрија.

10.1. Турбидиметрија

Турбидиметрија је инструментална метода која се заснива на принципу одређивања количине неке чврсте материје у некој суспензији мерењем пропуштене светлости. Турбидиметријом се мери количина светлости коју раствор апсорбује у правцу извора светлости. Светлост се пропушта кроз филтер који формира светлост одређене таласне дужине. Она се затим пропушта кроз кивету са испитиваним раствором. Фотоелектрична ћелија сакупља светлост која пролази кроз кивету. Резултат мерења (турбидитет) је разлика између јачине упадног и пропуштеног зрачења.

Милко-тестер је инструмент за одређивање садржаја млечне масти у млеку. Рад апарата је заснован на принципу турбидиметрије. Масне глобуле у млеку производе ефекат расипања када видљива светлост пролази кроз кивету са узорком. Турбидиметрија млека зависи од броја присутних масних глобула, количине (запремине) узорка који се мери и од њене рефракције. Да би мерење апсорпције било пропорционално садржају млечне масти у узорку млека, треба елиминисати један део утицаја казеинских мицела и хомогенизовати узорак да би масне глобуле имале исте димензије.



Милко-тестер је најјефтинији и најмање аутоматизован модел. Узорци се ручно стављају на инструмент, а операције растварања казеина, хомогенизација (у четири степена) и фотометријско одређивање садржаја млечне масти обављају се аутоматски.

Слика 42. Милко-тестер
(извор:<http://www.sstengineers.com/html/electronic-milko-tester.html>)

10.2. Апсорпционе методе спектралне анализе

Апсорпционе методе спектралне анализе се заснивају на мерењу смањења интензитета електромагнетног зрачења услед апсорпције при проласку кроз испитивану супстанцу. Апсорбовано зрачење доводи до енергетских промена у атомима, молекулима и јонима испитиване супстанце. Апсорпција може бити у видљивом делу спектра, у ултравиолетној (UV) и инфрацрвеној (IR) области.

Апсорпционе оптичке методе могу се поделити у три групе:

1. Колориметрију
2. Апсорпциону спектрофотометрију
3. Атомску апсорпциону спектрофотометрију

10.2.1. Инфрацрвена (IR) спектрофотометрија

IR је најподеснија метода за квалитативну и квантитативну анализу, јер сва органска једињења апсорбују у IR спектру за разлику од UV и видљивог дела спектра.

Стандардом ISO 9622/ IDF 141 дате су основне смернице за анализу млека и млечних производа применом средње инфрацрвене области спектофотометрије. Овај стандард је настао кроз заједнички рад IDF-а и ISO у циљу ажурирања кључних аналитичких стандарда на глобалном нивоу.

Принцип рада инструмената који примењују IR област спектофотометрије је следећи:

- Након претходног третмана и хомогенизације, где је потребно, узорак се мери инфрацрвеним спектрометром који бележи количину зрачења апсорбованог у трансмитантности на одређеним таласним дужинама у средњем инфрацрвеном региону.
- Спектрални подаци се трансформишу у процене концентрација састојака или других физичко-хемијских параметара кроз калибрационе моделе развијене на репрезентативним узорцима из популације која се тестира.
- За неке параметре, тј. еквиваленте тачке смрзавања, сигнали са додатних инсталираних сензора могу се уносити у калибрациони модел.

Приликом рада на инструментима мора се водити рачуна о факторима који могу утицати на мерење, а то су:

1. Фактори самог инструмента
 - Поновљивост
 - Нулта стабилност
 - Хомогенизација
 - Линеарност
 - Преносивост
2. Физичко хемијски и биолошки фактори
 - Састав млека
 - Састав масних киселина
 - Липолиза
 - Физичко стање млечне масти
 - Варијације у не протеинском азоту (NPN)
 - Варијације у лимунској киселини

- рН
- Конзерванси
- Ефекти матрице производа

Калибрација инструмента

Неопходно је подесити сигнал инструмента тако да за сваки ниво концентрације компоненте која се мери, читавање инструмента буде блиско вредности датој референтном методом. Ако референтне методе нису доступне или нису изводљиве, могу се користити алтернативне методе, под условом да су адекватно валидоване.

Референтне методе за калибрацију су:

1. *Rose Göttlieb* за одређивање садржаја млечне масти
2. Кјелдалова за одређивање садржаја протеина
3. Одређивање лактозе течном хроматографијом
4. Одређивање суве материје гравиметријски.

MILKO-SCAN је најзаступљенији инструмент у нашој земљи, који ради на принципу спектрофотометрије у инфрацрвеној области. Постоји више генерација и типова инструмента MILKO-SCAN, који се међусобно разликују по броју параметара који се могу одредити у млеку или млечним производима, броју узорака коју може анализирати у одређеном временском периоду и др. Новији инструменти користе Фуријерову трансформацију у инфрацрвеном спектру (FTIR технологија) која побољшава рутину композиционе анализе млека, односно омогућава прецизније одређивање садржаја млечне масти, протеина и лактозе, али и даје могућност одређивања других састојака у млеку (урее, суве материје, казеина, масних киселина, кетонских тела, и др). Уз истовремено одређивање више параметара из једног узорка смањују се трошкови анализе у лабораторијама. Све ово треба, пре свега, да помогне фармерима да оптимизују управљање фармама, нпр. увођењем индикатора за рано откривање кетозе или ефикасност храњења.



Слика 43. Инструмент MILKO-SCAN и FOSSOMATIC
(извор: <https://tekafos.com.tr/assets/katalog/foss/foss-fossomatic.pdf>)

ПОГЛАВЉЕ IV

ФИЗИЧКЕ И ФИЗИЧКО – ХЕМИЈСКЕ ОСОБИНЕ МЛЕКА

ДОКАЗИВАЊЕ СРЕДСТАВА ЗА КОНЗЕРВИСАЊЕ И ФАЛСИФИКОВАЊЕ
МЛЕКА



11. ОДРЕЂИВАЊЕ КИСЕЛОСТИ МЛЕКА

Одређивање киселости млека је један од начина контроле хигијенске исправности и квалитета млека. Киселост млека се изражава као укупна и активна.

Укупну киселост млека чине природна и стечена киселост.

Природна киселост млека - Млеко одмах после muže има одређену природну киселост. Ова киселост потиче од киселинских својстава протеина, примарних и секундарних фосфата, цитрата и CO_2 . Приликом одређивања титрационе киселости млека одређујемо киселост која потиче од тренутно недисоцираних киселих састојака, а који имају велики пуферни капацитет. Млеко са већим садржајем суве материје без масти, често може имати повећану титрациону киселост, а његова активна киселост не мора бити повећана. Ово млеко је у технолошком погледу сасвим исправно и погодно за прераду због повећаног садржаја суве материје.

Додатна (стечена) киселост - Током стајања млека после muže долази до повећања киселости, а брзина зависи од брзине хлађења, температуре хлађења и дужине складиштења. Киселост се може повећати и при складиштењу на ниским температурама, али знатно спорије у односу када млеко стоји неохлађено. Током периода складиштења долази до размножавања бактерија млечне киселине у млеку, које разлажу лактозу и стварају млечну и друге киселине и доводе до промене киселости млека.

Укупна киселост се може одредити на два начина:

1. Титрационим методама
2. Брзим методама

Активна киселост – се изражава као рН вредност и представља негативни декадни логаритам активности концентрације водоникових јона. Просечна рН вредност млека износи 6,6 тј. креће се у границама 6,5 до 6,7.

11.1. ТИТРАЦИОНЕ МЕТОДЕ ОДРЕЂИВАЊА КИСЕЛОСТИ МЛЕКА

Постоји више метода за одређивање укупне киселости, а свима је заједничко да користе раствор натријум хидроксида (NaOH), уз коришћење алкохолног раствора фенолфталеина као индикатора, и да се титрација врши до појаве бледо ружичасте боје. Најчешће се примењују:

1. Метода по *Soxhlet – Henkel*-у,
2. Метода по Тернеру (*Thörner*),
3. Метода по Дорнику (*Dornic*).

11.1.1. Метода по Soxhlet – Henkel

Принцип

Степен киселости млека ($^{\circ}\text{SH}$) утврђује се методом по *Soxhlet-Henkel*-у који означава број утрошених милилитара раствора натријум-хидроксида $c(\text{NaOH})=0,25 \text{ mol/l}$, потребних за неутрализацију 100 ml млека уз индикатор фенолфталеин.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) коничне посуде (ерленмајер) од 100-150 ml;
- 2) бирета;
- 3) пипета од 1 ml, 2 ml и 50 ml.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) раствор натријум-хидроксида, $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol/l}$;
- 2) 2%-ни раствор фенолфталеина у етанолу: 2 g фенолфталеина растворити у 70%-ом (V/V) етанолу и допунити етанолом до 100 ml;
- 3) 5% раствор кобалт-сулфата ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) : 5 g кобалт сулфата растворити у води и допунити до 100 ml.

Поступак одређивања киселости

У чашу или ерленмајерову посуду одмери се 50 ml млека и дода 2 ml раствора фенолфталеина. Садржај се титрира са $0,25 \text{ mol/l}$ натријум-хидроксидом. За време титрације млеко треба мешати. Титрација је завршена када млеко добије бледоружичасту боју, која се пореди са стандардном бојом припремљеној у другој коничној посуди. Стандардна боја се припрема тако што се у другу коничну посуду одмери 50 ml истог узорка млека и дода 1 ml 5% раствора кобалт-сулфата. Сваки утрошени ml раствора натријум хидроксида одговара 1° киселости по SH (када се титрише 100 ml млека).

Израчунавање

Степен киселости се израчунава на основу броја милилитара натријум-хидроксида утрошених за неутрализацију 50 ml млека, по следећој формули:

$$\text{Степен киселости } (^\circ\text{SH}) = a \times F \times 2,$$

Где је:

a – број милилитара раствора натријум-хидроксида утрошених за неутрализацију 50 ml млека;

F – фактор раствора натријум-хидроксида концентрације $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;

2 – ако се за титрацију користи 50 ml уместо 100 ml млека.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два истовремена одређивања.

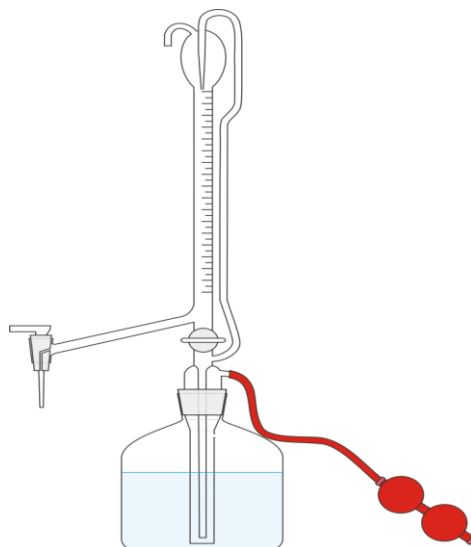
Метода по Soxhlet – Henkelu - модификација по Morresu

За утврђивање степена киселости млека у $^\circ\text{SH}$ користи се модификација по Morresu, чиме се подразумева употреба децимоларног раствора натријум-хидроксида $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ за неутрализацију 100 ml млека.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) коничне посуде (ерленмајер) од по 100 ml;
- 2) бирета;
- 3) пипета од 20 ml;
- 4) пипета од 1 ml.



Слика 44. Бирета за одређивање киселости млека

(извор: <https://www.tlos.hr/lab/odmjerno-posudje/bireta-automatska-po-pelletu-s-medjuripcem-sa-schellbach-crtom-cep-ptfe-s-gumenom-pumpicom-i-bocom-2000-ml-klasa-as-2/>)

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) раствор натријум-хидроксида, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 2) 2%-ни раствор фенолфталеина у етанолу: 2 g фенолфталеина растворити у 70%-ом (V/V) етанолу и допунити етанолом до 100 ml;
- 3) 2%-ни раствор кобалт-сулфата ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$): 2 g кобалт сулфата растворити у води и допунити до 100 ml.

Поступак одређивања киселости

У коничну посуду унесе се 20 ml млека и 1 ml раствора фенолфталеина. Садржај се титрира децимоларним раствором натријум-хидроксида, уз мешање, до појаве бледоружичасте боје, која се пореди са стандардном бојом припремљеној у другој коничној посуди. Стандардна боја се припрема тако што се у другу коничну посуду одмери 20 ml истог узорка млека и дода 1 ml раствора кобалт-сулфата.

Израчунавање

Степен киселости се израчунава на основу броја милилитара натријум-хидроксида утрошених за неутрализацију 20 ml млека, по следећој формули:

$$\text{Степен киселости } (^{\circ}\text{SH}) = a \times F \times 2,$$

Где је:

a – број милилитара децимоларног раствора натријум-хидроксида утрошених за неутрализацију 20 ml млека;

F – фактор раствора натријум-хидроксида концентрације $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два истовремена одређивања.

Код крављег млека киселост се креће од 6,6 до 6,8 $^{\circ}\text{SH}$.

11.1.2. Метода по Тернеру (Thörner-у)

Киселост по Тернеру представља број ml 0,1 mol/l натријум-хидроксида утрошених за неутрализацију 100 ml млека. Овај метод одређивања киселости млека заступљен је у Русији, посебно у сирарству.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) лабораторијска чаша од 100 ml;
- 2) бирета;
- 3) пипета од 50 ml;
- 4) пипета од 10 ml.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) раствор натријум-хидроксида, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 2) 2%-ни раствор фенолфталеина у етанолу: 2 g фенолфталеина растворити у 95%-ом (V/V) етанолу и допунити етанолом до 100 ml;

Поступак одређивања киселости

У лабораторијску чашу се сипа 10 ml млека и 1 ml 2% раствора фенолфталеина. Садржај се титрира децимоларним раствором натријум-хидроксида, уз мешање, до појаве бледоружичасте боје, која мора бити постојана 2 минута. Након завршене титрације очита се број милилитара утрошеног раствора натријум-хидроксида, а затим се степен киселости израчунава по следећој формули:

$$\text{Степен киселости } (^{\circ}\text{T}) = a \times F \times 10$$

Где је:

- a – број милилитара $0,1 \text{ mol/l NaOH}$, утрошених за неутрализацију 10 ml млека;
 F – фактор раствора натријум-хидроксида концентрације $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

11.1.3. Метода по Дорнику (Dornic)

Метода одређивања киселости млека по Дорнику користи се у Француској. Киселост по Дорник-у представља број ml $1/9 \text{ mol/l}$ раствора NaOH утрошених за неутрализацију 100 ml млека уз коришћење индикатора фенолфталеина. Ова метода се користи и за одређивање садржаја млечне киселине

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) ерленмајер или лабораторијска чаша од 50 ml;
- 2) бирета;
- 3) пипета од 10 ml.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) раствор натријум-хидроксида, $1/9 \text{ mol/l NaOH}$;
- 2) 2%-ни раствор фенолфталеина у етанолу: 2 g фенолфталеина растворити у 95%-ом (V/V) етанолу и допунити етанолом до 100 ml;

Поступак одређивања киселости

У лабораторијску чашу се сипа 10 ml млека и две капи 2% раствора фенолфталеина. Садржај се титрише $1/9 \text{ mol/l}$ раствором натријум-хидроксида, уз мешање, до појаве бледоружичасте боје. Након завршене титрације очита се број милилитара утрошеног раствора натријум-хидроксида, а затим се степен киселости израчунава по следећој формули:

$$\text{Степен киселости (}^{\circ}\text{D)} = a \times F \times 10$$

Где је:

a – број милилитара 1/9 mol/l NaOH, утвршених за неутрализацију 10 ml млека;

F – фактор раствора натријум-хидроксида концентрације c(NaOH) = 0,1 mol/l.

Количина млечне киселине (у %) може се израчунати на основу степена киселости у $^{\circ}\text{D}$, тако што се степен киселости подели са 10 (један $^{\circ}\text{D}$ одговара 0,1 g млечне киселине у 1 литру млека).

11.1.4. Грешке код одређивања степена киселости титрацијом

Приликом одређивања титрационе киселости млека могу се добити нетачни резултати који могу настати као последица следећих грешака:

1. Уколико је узорак пенушав, пипетом се узима мања количина узорка и последица је мањи степен киселости;
2. Недовољно измешан узорак, који има мањи садржај протеина (казеина), па је измерени степен киселости низак;
3. Добијена боја на крају титрације је бледа и није постојана, а измерена киселост је нижа;
4. У узорак млека је додата недовољна количина индикатора, па је измерен виши степен киселости;
5. Уколико се титрација врши у недовољно осветљеној просторији, измериће се виши степен киселости;
6. Уколико се не направи стандардни раствор/боја, крај титрације није увек боја истог интензитета и долази до већих разлика.

11.2. БРЗЕ МЕТОДЕ ОДРЕЂИВАЊА КИСЕЛОСТИ МЛЕКА

Поред одређивања укупне киселости млека титрационим методама, она се може и приближно одредити неком од брзих метода. За брзо одређивање киселости млека користе се: алкохолна проба, двострука алкохолна проба, ализаролна проба и црвена проба. Ове методе се заснивају на таложењу протеина млека (казеина) због повећане киселости који постаје термолабилан (проба кувањем) или нестабилан према дејству етанола (алкохолна проба). Може се применити и испитивање киселости индикатором (ализаролна проба). Свим брзим методама киселост млека се одређује само орјентационо. Неке од ових метода могу да дају позитивну реакцију и при одговарајућој киселости, када до дестабилизације колоидног система долази због поремећаја у функцији млечне жлезде.

11.2.1. Алкохолна проба

Принцип

Ова проба се заснива на особини млека да коагулише при додатку исте количине 72% алкохола етанола, ако му је киселост виша од 8 °SH.

При додавању етанола долази до дехидратације колоидне мицеле протеина, која из сол стања прелази у гел стање. Ова појава је условљена степеном бубрења колоида и концентрацијом употребљеног етанола. Код примене већих концентрација алкохола брже долази до дехидратације.

Алкохолна проба може бити позитивна и код физиолошких или патолошких промена у секрецији млека (колострално и маститично млеко), а такође и млеко које „слатко“ груша услед дејства ренина којег ствара *B. tycooides* и њему слични микроорганизми. Зато при процени добијених резултата треба бити обазрив, посебно ако се ради о млеку појединачних крава.

Прибор

- две пипете од 5 ml
- Петри посуда или епрувета

Реагенси

- 72% етанол

Поступак

У Петри посуду или епрувету отпипетирати 5 ml млека, а затим чистом пипетом додати 5 ml 72% етанола. Промеша се и посматра да ли је дошло до коагулације. Ако је киселост млека 9 °SH долази до појаве „пахуљица“.

Алкохолна проба може да се ради и као двострука проба, када се 5 ml помеша са 10 ml 72% етанола. Млеко се згруша ако је киселост већа од 8 °SH. Приликом избора млека за стерилизацију користи се 75% етанол и врши се двострука алкохолна проба. Млеко здравих крава не коагулише ни код двоструке алкохолне пробе.

У циљу поједностављивања одређивања киселости млека алкохолном пробом конструисани су тзв. „пиштољи“- апарати за брзо одређивање киселости

млека. Руковање са „пиштољем“ је веома једноставно и лако, а добијени резултати су у границама потребне тачности. Погодни су за коришћење и код црвене и ализаролне пробе. Углавном се користе на пријемним рампама млекара и откупним/сабирним станицама где се прима млеко од већег броја произвођача, а веома је важна брзина извођења пробе.



Слика 45. Пиштољ за одређивање киселости млека
(извор: <https://farmnet.rs/proizvod/pi-tolj-za-merenje-kiselosti-mleka/1214.html>)

11.2.2. Ализаролна проба

Принцип

Ова метода је комбинација алкохолне пробе и пробе са индикатором ализарином. Омогућава нам да разликујемо млеко које има повећану титрациону киселост због повећаног садржаја суве материје без масти, од млека код кога је повећана киселост последица активности великог броја микроорганизама, односно лошег хигијенског квалитета млека. Поред промене боје посматра се и дејство алкохола, јер комбиновани ефекат млечне киселине и алкохола доводи до преципитације протеина млека у виду пахуљица.

Као и алкохолна проба представља брзу методу за одређивање киселости млека, а најчешће се користи приликом пријема млека у млекарама и на откупним/сабирним местима.

Ализарин је раствор ализарина у 72% етанолу. Ализарин има жуто-смеђу боју, а растворен у етанолу показује црвено-смеђу боју. Са променом киселости млека мења се и боја ализарола. У киселој средини боја ализарола је жута, док је у алкалној љубичасто-црвена. На основу добијене боје смеше млека и ализарола може се приближно одредити киселост млека.

Прибор

- две пипете од 2 ml,
- Петри посуда или епрувета.

Реагенси

- Ализарол – засићени раствор ализарина (1,2 диоксиантахинон $C_{14}H_8O_4$) у 72% неутралном етанолу.

Поступак

У епрувету или Петри посуду пренети пипетом 2 ml млека и додати 2 ml раствора ализарола. Промешати садржај и боју упоредити са бојом упоредне табеле по Моррес-у (табела 11) како би се орјентационо одредила киселост млека. Поред боје посматра се и да ли има промене конзистенције тј. да ли долази до преципитације казеина и појаве пахуљица.

Табела 11. Промена боје млека у зависности од киселости (ализаролна проба)

Киселост млека у °SH	Боја млека	Јачина згрушавања
7	Љубичастоцрвена	Нема
8	Бledoцрвена	Нема
9	Тамноцрвена	Ситне пахуљице
10	Црвеносмеђа	Средње пахуљице
11	Смеђа	Крупне пахуљице
12	Жутосмеђа	Сасвим крупне пахуљице
14	Смеђежута	Сасвим крупне пахуљице
16	Жута	Сасвим крупне пахуљице
22 и више	Светложута	Сасвим крупне пахуљице

11.2.3. Црвена проба

Ова проба је добила назив по томе што се користи раствор NaOH, којем је додат индикатор фенолфталеин, па реагенс има црвену боју. Метода се користи да би се брзо утврдило да ли је млеко прешло дозвољену границу киселости. Раствор NaOH може се подесити да реагује на различите степене киселости, тако што када се раствор помеша са млеком које има већи степен киселости од оног на који је раствор подешен, губи се боја раствора, а уколико је нижи степен киселости испитиваног млека боја остаје.

Прибор

- пипете од 5 ml и 10 ml
- епрувета

Реагенси

- 0,625 mol/l раствор натријум хидроксида (25 g NaOH растворити у 1 l дестиловане воде);
- 2% раствор фенолфталеина у 96% етанолу;
- Црвени раствор натријум хидроксида – прави се од „основног раствора“ (0,625 mol/l раствора натријум хидроксида) чија се одређина запремина сипа у нормални суд у зависности од одређеног киселинског степена млека (Табела 12) и дода 2% фенолфталеин (4 ml на 100 ml „дрвеног раствора“), а

затим допуни дестилованом водом до жељене запремине. Овај раствор је непостојан и мора се припремати непосредно пре анализе. Количина припремљеног раствора зависи од броја узорака који ће се анализирати у току дана.

Табела 12. *Diberne*-ова табела за припрему црвеног раствора натријум хидроксида

Киселост млека у °SH	Количина основног раствора NaOH у ml коју треба узети за црвени раствор запремине 250 – 1000 ml			
	За 250 ml	За 500 ml	За 750 ml	За 1000 ml
6,0	5,2	10,4	15,6	20,8
6,5	5,7	11,4	17,1	22,8
7,0	6,2	12,4	18,6	24,8
7,5	6,7	13,4	20,1	26,8
8,0	7,2	14,4	21,6	28,8
8,5	7,7	15,4	23,1	30,8
9,0	8,2	16,4	24,6	32,8
9,5	8,7	17,4	26,1	34,8
10	9,2	18,4	27,6	36,8
10,5	9,7	19,4	29,1	38,8
11,0	10,2	20,0	30,6	40,8
2% фенолфталеин	+ 10 ml	+ 20 ml	+ 30 ml	+ 40 ml

Поступак

У епрувету се дода 10 ml црвеног раствора и 5 ml испитиваног млека, а затим садржај епрувете добро промеша и посматра боја. Ако остане ружичаста боја раствора, значи да киселост млека није изнад дозвољене максималне киселости. Уколико боја раствора нестане, киселост млека је изнад горње дозвољене границе.

11.2.4. Коришћење индикаторских папира

За грубо одређивање киселости млека може се користити индикаторски папир. Постоји више врста ових папира, код свих се скале боја разликују за по једну јединицу киселости. Руковање је једноставно, а поступак брз. Индикаторски папир се потопи у млеко, извади и на приложеној скали тражи се боја која одговара боји на папиру који је уроњен у млеко. Када се пронађе одговарајућа боја, на скали се погледа којој вредности степена киселости одговара та боја.

Недостатак ове методе је често мала разлика у нијансама боје између два застопна степена киселости, па су код неизвежбаног ока могуће грешке.

11.2.5. Проба термостабилности млека (Проба кувањем)

Ова брза метода има примену приликом пријема млека у млекару у циљу провере термостабилности беланчевина. Млеко се загрева до температуре кључања и посматра да ли долази до коагулације протеина.

Прибор и апарати

- Епрувета,
- Пламеник,
- Троножац,
- Азбестна мрежица,
- Пипета 5 ml.

Поступак

У епрувету се сипа 5 ml млека, загрева до кључања и посматра да ли је дошло до коагулације. Да би се лакше уочиле ситне пахуљице, епрувета се нагне и посматра се сливање млека низ зид епрувете. Ако се млеко згрушава у ситним пахуљицама, киселински степен је мало изнад 11 °SH, уколико се јаве крупније пахуљице или груш, киселост је значајно виша од 11 °SH.

Термостабилност млека, односно протеина млека, може да буде смањена и због промена у секрецији млека, тада је проба кувања позитивна иако је киселост млека мања од 11 °SH.

11.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНЕ КИСЕЛОСТИ

Активна киселост или рН представља негативни декадни логаритам концентрације водоникових јона. Млеко одмах после muže, због свог хемијског састава, има благо киселу реакцију и активна киселост млека здравих крава креће се у границама од 6,5 до 6,7. Код обољења вимена (маститиса) долази до промене рН вредности млека, јер је повећана пропустљивост капилара за јоне карбоната и долази до повећања рН вредности млека.

Принцип

рН млека се одређује потенциометријски помоћу рН метра на основу потенцијалне разлике између две електроде.

Апарати и прибор

- рН метар

Раствори

- Стандардни пуферски раствори за баждарење рН метра

Поступак

Само мерење треба вршити према упутству за рад рН метром. Пре почетка мерења потребно је извршити баждарење рН-метра стандардним пуферским растворима. Електроду рН метра уронити у млеко и на дисплеју очитати измерену рН вредност. Приликом мерења водити рачуна да температуре раствора за баждарење и млека буду приближне. Раније се мерење рН вредности вршило само у лабораторијским условима и у научне сврхе, али појавом мањих тзв. ручних рН метара омогућена је њихова примена у свакодневној контроли киселости млека.



Слика 46. рН метар

(извор: <https://www.hannainstruments.rs/prenosni-ph-metar-za-mleko-hi99162-product>)

12. ОДРЕЂИВАЊЕ ТАЧКЕ МРЖЊЕЊА МЛЕКА

У складу са важећим Правилником о квалитету сировог млека (106/17) сирово млеко, је млеко добијено редовном, непрекидном и потпуном мужом здравих, правилно храњених музних грла, најкасније 30 дана пре партуса и најраније осам дана после партуса, које није загревано на температури вишој од 40 °C и *без додавања* или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека.

Због тога, додавање воде у млеко није дозвољено. Свако фалсификовање млека водом може се утврдити индиректно одређивањем тачке мржњења млека, помоћу тзв. уређаја криоскоп (грч. *kryos* = хладно, мраз, лед; *scopein* = открити, мерити).

Ова аналитичка метода заснива се на чињеници да се млеко замрзава на нижим температурама него чиста вода, због материја које су у њему растворене. Ако се млеку дода вода, тачка мржњења расте, односно приближава се 0 °C.

Тачка мржњења млека је температура при којој млеко прелази из течног у чврсто агрегатно стање и нормално се креће од -0,520 °C до -0,540 °C код крављег млека. Правилником о квалитету сировог млека (106/17), дефинисано је да тачка мржњења крављег млека није виша од -0,515 °C, а према Директиви ЕЕС 92/46 ова вредност не сме бити виша од -0,520 °C.

На тачку мржњења млека утиче велики број фактора (раса, годишње доба, начин исхране, фаза лактације и др.), а пре свега садржај лактозе и минералних материја који се у млеку налазе у правом раствору. Већа одступања се јављају код крава са маститисом и код поремећаја секреције млека, приликом додавања конзерванса и других страних материја, као и при повећању киселинског степена млека. Млеко здравих крава има константан садржај лактозе и минералних материја, па се одређивањем тачке мржњења може одредити садржај додате воде у млеку.

Међународни стандард SRPS EN ISO 5764:2009 Млеко - Одређивање тачке мржњења – Термисторско-криоскопска метода (Референтна метода) утврђује референтну методу за одређивање тачке мржњења сировог млека, термички обрађеног пуномасног млека, млека са смањеним садржајем млечне масти и обраног млека, као и за сирово овчије и козје млеко, коришћењем термисторског криоскопа. Тачка мржњења се може користити за процену удела додате воде у млеко. Приликом израчунавања количине додате воде мора се узети у обзир да је тачка мржњења подложна дневним и сезонским варијацијама.

12.1. Принцип рада криоскопа

Тестни узорак млека се замрзава на одговарајућу температуру, кристализација је индукована средствима довољним да изазову тренутно ослобађање топлоте са пратећим загревањем узорка до константне температуре. Константна температура се постиже када пораст температуре није прешао 0,5 m°C у претходних 20 s, тако достигнута температура одговара тачки мржњења испитиваног узорка.

Опрема и прибор

- Епрувете 2 ml-2,5 ml;
- Аутоматска пипета 2-5 ml;
- Аналитичка вага;
- Сушница температуре 130 ± 1 °C или пећ за жарење 300 ± 25 °C;
- Ексикатор;
- Ерленмајер 1000 ml;
- Криоскоп - инструмент који користи високо прецизне термисторе за одређивање температуре узорка, контролише степен хлађења и индукцију смрзавања и мерење тачке мржњења узорка.

Уређај за хлађење

Може се користити неколико типова термостатски контролисаних расхладних уређаја, нпр.:

- а) тип потапања: расхладно купатило са одговарајућим капацитетом пуфера;
- б) тип циркулације: непрекидан ток расхладне течности око епрувете за узорак;
- ц) тип расхладног блока: расхладни блок са малом количином расхладне течности.

Након почетка замрзавања, одржавати константну температуру расхладне течности око епрувете за узорак $-7,0$ °C \pm $0,5$ °C.

НАПОМЕНА: Одговарајућа течност за хлађење је 33% (запремински удео) водени раствор пропилен гликола.

Реагенси

- Дестилована вода, прокључала и охлађена на 20 ± 2 °C непосредно пре употребе,
- Натријум хлорид NaCl, осушен у пећи за жарење на 300 ± 25 °C 5 сати или осушен у сушници на 130 ± 2 °C, најмање 24 сата, затим охлађен на собној температури у ексикатору.

Припрема стандардних раствора

Стандардни раствори натријум хлорида праве се на основу табеле 13. Осушен NaCl мери се на аналитичкој ваги са тачношћу од 0,1 mg и раствара у $1.000g \pm 0,1$ g воде. Тако спремљени раствори се чувају у полиетиленским посудама (капацитета, не већег од 250 ml), на температури до 5 °C. За сваку концентрацију прописана је тачка мржњења која се очекује. Овако спремљени раствори могу се користити 2 месеца.

Пре коришћења стандардног раствора, нежно окренути и преокренути боцу, да би се садржај хомогенизовао. Стандардни раствор не мешати енергично, јер може довести до инкорпорације ваздуха. За ову референтну методу користите само стандардне растворе натријум хлорида без конзерванса.

Узорке стандардног раствора узимати одливањем, никад не користити пипету.

Табела 13. Тачка мржњења стандардних раствора натријум хлорида (ISO 5764:2009)

NaCl раствор (g/kg)	NaCl раствор на 20 °C (g/l)	Тачка мржњења °C
6,763	6,731	-0,400
6,901	6,868	-0,408
7,625	7,587	-0,450
8,489	8,444	-0,500
8,662	8,615	-0,510
8,697	8,650	-0,512
8,835	8,787	-0,520
9,008	8,959	-0,530
9,181	9,130	-0,540
9,354	9,302	-0,550
9,475	9,422	-0,557
10,220	10,161	-0,600

Калибрација криоскопа

За калибрацију криоскопа користе се два стандардна раствора натријум хлорида, која уско обухватају очекивану вредност тачке мржњења млека које се испитује. Разлика у тачкама мржњења између два одабрана стандардна раствора натријум хлорида не сме бити нижа од 100 m°C. Проверити да ли су температуре изабраних стандардних раствора натријум хлорида и узорка слични. Сипати 2,5 ml ± 0,1 ml стандардних раствора натријум хлорида у чисте, суве епрувете за узорке и калибрисати инструмент према упутству произвођача. Користити епрувете за узорке истог типа, као и оне које се користе током испитивања узорка. Након тога, термисторски криоскоп је спреман за употребу.

Припрема узорка за испитивање

Ако је потребно, уклоните сва видљива страна тела или чврсту масноћу из узорка за испитивање филтрирањем у чисту, суву посуду. Лагано промешати узорак. Проверити температуру складиштења узорака и након што су достигли лабораторијску температуру започети одређивање. Узорци млека и стандардни раствори натријум хлорида морају имати сличне температуре на почетку одређивања.

Прелиминарне провере

Пре почетка анализе неопходно је извршити прелиминарне провере инструмента у складу са упутствима произвођача.

Пре сваке серије одређивања, измерити тачку мржњења стандардног раствора натријум хлорида (нпр. раствор са тачком мржњења од -0,512 °C), док се вредности добијене у два узастопна одређивања не разликују за више од 0,001 °C. Ако се аритметичка средина два резултата разликује од тачке мржњења стандардног раствора натријум хлорида за више од 0,002 °C, потребно је поново

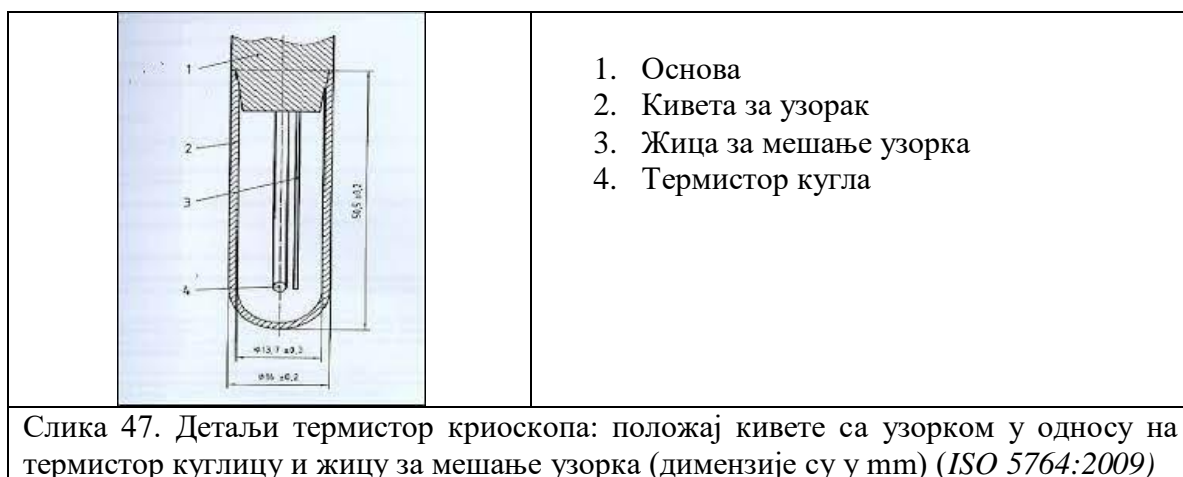
калибрисати криоскоп. Ако је криоскоп у сталној употреби, извршите рутинску проверу калибрације најмање једном на сат.

Одређивање тачке мржњења

Лагано преокренути и ротирати посуду са узорком неколико пута да би се промешао њен садржај, избегавајући инкорпорацију ваздуха. Уз помоћ пипете, пренети $2,5 \text{ ml} \pm 0,1 \text{ ml}$, припремљеног узорка за испитивање, у чисту и суву епрувету за узорке. Проверити да ли су сонда и жица за мешање чисте и суве. Ако је потребно, пажљиво их обрисати са меком, чистом тканином без влакана. Ставити епрувету са узорком у калибрисани криоскоп према упутству произвођача.

Време од почетка замрзавања до постизања константне вредности температуре, као и време у ком температура остаје константна, разликује се од узорка до узорка и знатно је краће за воду и стандардни раствори натријум хлорида него за млеко.

Након сваког одређивања склонити епрувету са узорком и испрати сонду термистора и жицу за мешање са водом, а затим обрисати меком, чистом марамцом без влакана. Потребно је извршити два мерења за исти узорак. Ако се две тачке мржњења разликују за више од вредности поновљивости резултати се одбацују и одређивање се понавља.



13. ОДРЕЂИВАЊЕ ГУСТИНЕ И СПЕЦИФИЧНЕ ТЕЖИНЕ МЛЕКА

13.1. Густина млека

Према међународном систему јединица (SI) густина је физичка особина која се користи за поређење маса различитих супстанци или дате супстанце под различитим условима.

Густина представља масу јединичне запремине и изражава се у килограмима по кубном метру:

$$d = \frac{\text{маса}}{\text{запремина}} = \frac{m}{V} \text{ (kg/m}^3\text{)}$$

Просечна густина збирног млека је 1,030 g/cm³ на 20 °С.

Под густином млека се подразумева и масени однос истих запремина млека на 20 °С и воде на 4 °С, а обележава се са D_{20/4}.

Просечна густина збирног млека (D_{20/4}=1,030) служи за прерачунавање литара у килограме млека.

Густина млека је условљена густином појединих његових састојака:

- вода и маст имају мању густину од просечне густине млека, а
- протеини, лактоза и соли већу густину од просечне густине млека.

При обирању млека повећава се густина (одваја се млечна маст која има мању густину и остају протеини, лактоза и соли које имају већу густину).

Правилником о квалитету сировог млека (106/17) дефинисана је просечна густина млека (g/cm³) за поједине врсте млека, на температури од 20 °С:

- Кравље млеко 1,028 – 1,034
- Овчије млеко 1,034 – 1,042
- Козије млеко 1,024 – 1,040

13.2. Релативна запреминска маса- Специфична тежина

Поред густине у млекарству се користи и појам специфична тежина, односно релативна запреминска маса (РЗМ). То је релативан, неименован број који представља однос густине млека на 15 °С и густине воде на 15 °С, односно колико је пута нека запремина млека на 15 °С тежа од исте запремине воде на 15 °С. Бројчана вредност густине млека је за око 0,002 мања од РЗМ (СТ).

Просечна РЗМ збирног млека је 1,032.

РЗМ млека варира и зависи од количинских односа његових саставних делова, чије су специфичне тежине различите. Млечна маст има специфичну тежину мању од воде и она износи 0,93. Уколико млеко има већи садржај млечне масти имаће мању специфичну тежину и обратно. Услед утицаја различитих фактора мења се и СТ млека код појединих музних животиња у току лактације

Просечне вредности релативне запреминске масе за поједине врсте млека износе:

Кравље млеко 1,028 – 1,035

Овчије млеко 1,035 – 1,040

Козије млеко 1,030 – 1,034

Разводњавање и обирање млека доводи до промене његове СТ / РЗМ. Може се користити у контроли фалсификовања млека, у комбинацији са одређивањем садржаја млечне масти и тачке мржњења.

Одређивање РЗМ / СТ врши се лактодензиметром или пикнометром (тачнији резултати).

ОДРЕЂИВАЊЕ ЗАПРЕМИНСКЕ МАСЕ МЛЕКА ЛАКТОДЕНЗИМЕТРОМ

Апарати и прибор

- Мензура стаклена или метална, 300 ml
- Лактодензиметар

Лактодензиметар

Лактодензиметар је тип аерометра којим се одређује запреминска маса млека, мора бити баждарен према Закону о мерним јединицама и мерилима.

Састоји се од стаклене цеви, проширене у средњем делу, која се у доњем делу завршава проширењем у облику куглице испуњене ситном сачмом олова или неког другог тешког метала, да би лактодензиметар лакше могао да утоне у млеко. Изнад те куглице смештена је још једна мања испуњена живом, која представља део термометра уграђеног у лактодензиметар и служи за одређивање температуре млека.

Пловак – проширени средњи део лактодензиметра помоћу којег лактодензиметар, када се потопи у млеко, слободно плута.

Сужени део – изнад пловка, са уграђеном скалом за одређивање густине млека. На скали су исписани лактодензиметарски бројеви или степени испред којих треба додати још 1,0 да би се добила вредност РЗМ млека. Изнад ове скале налази се и део термометарске скале за утврђивање температуре млека.

Начин рада

Добро измешано млеко, најмање 250 ml, лагано се сипа у мензуру низ зид посуде, да би се избегло стварање пене. Мензура мора да буде довољно широка да лактодензиметар не додирује зидове и да може слободно да плута. Растојање између пловка лактодензиметра и зидова мензуре треба да буде најмање 0,5 cm. Лактодензиметар се лагано спушта у млеко до ознаке 30 на скали, да се не би разбио ако нагло потоне. Када се лактодензиметар умири, прочита се лактодензиметарски број у висини горњег менискуса. Најлакше се читава ако је ниво млека у посуди у равни са горњом ивицом мензуре, а висина очију при читавању у висини те ивице. Лактодензиметри су подешени на температуру од 15 °C. Млеко треба загрејати на ту температуру пре читавања, ако је хладно или расхладити ако је топлије. Уколико то није могуће врши се корекција, али се мора мерити у опсегу температуре млека од 10 до 20 °C. Корекција се врши тако да се за сваки степен температуре ниже од 15 °C одузме, а за виши дода 0,0002.

Уколико лактодензиметар показује запреминску масу на 20 °C, опсег мерења је од 15 до 25 °C, уз одговарајуће корекције.

Пример 1.

Очитана вредност на скали лактодензиметра је 32 (1,0320), на температури од 12 °C.

Треба за разлику температуре одузети 3 пута по 0,0002

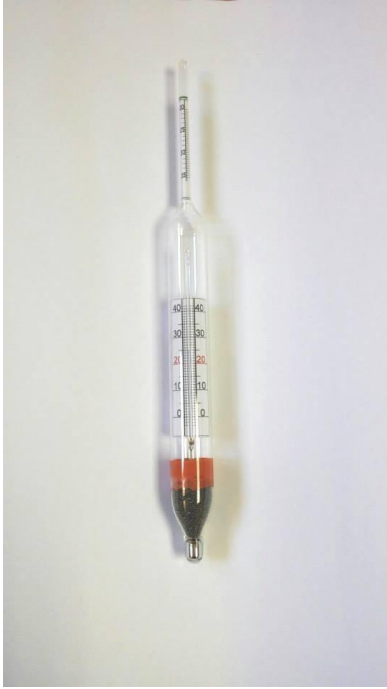
$$PЗМ = 1,0320 - 3 \times 0,0002 = 1,0314$$

Пример 2.

Очитана вредност на скали лактодензиметра је 31 (1,0310), на температури од 19 °C.

Треба за разлику температуре додати 4 пута по 0,0002

$$PЗМ = 1,0310 + 4 \times 0,0002 = 1,0318$$



Слика 48. Лактодензиметар
(фото: аутор)



Слика 49. Мерење запреминске масе
лактодензиметром (фото: аутор)

14. ОДРЕЂИВАЊЕ ГРУБЕ НЕЧИСТОЋЕ У МЛЕКУ

При нехигијенским условима добијања, обраде, чувања и транспорта млека из спољне средине могу dospети делићи хране, простирке, балеге, длаке, прашине и други остаци који спадају у грубу нечистоћу млека. Присуство грубе нечистоће је показатељ хигијенске исправности млека, па се може користити за орјентациону процену хигијенског квалитета млека.

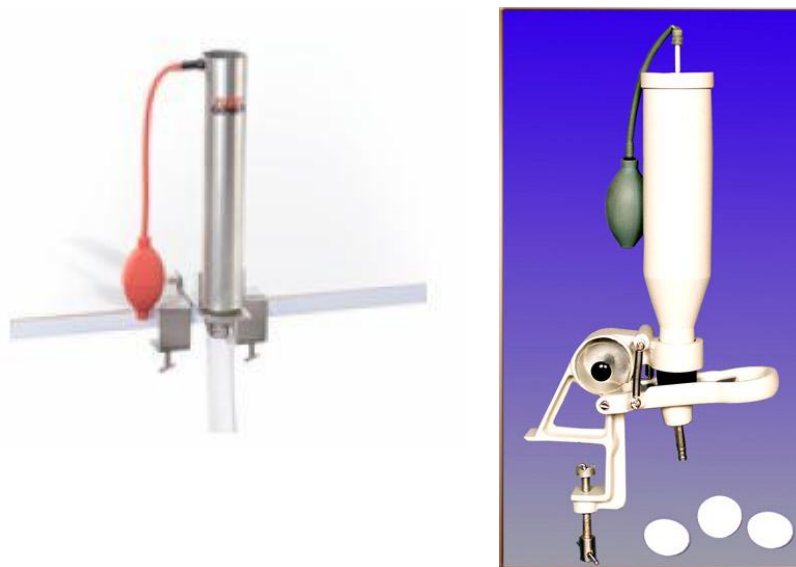
Млеко које садржи грубу нечистоћу има и велик укупан број микроорганизама који се налазе у нечистоћи и при стајању у млеку се ослобађају из нечистоће. Један грам механичке нечистоће може да садржи просечно до 20 милиона микроорганизама. Ова метода не може да замени друге методе којима се тачније процењује хигијенска исправност млека.

Принцип и примена

Овај метод се заснива на задржавању грубе нечистоће млека на филтеру, приликом цеђења.

Апаратура и прибор

1. Апарат за одређивање механичке нечистоће који се састоји од:
 - металне или стаклене боце, који у доњем суженом делу има наставак за постављање филтера;
 - филтера.



Слика 50. Апарати за одређивање механичке нечистоће

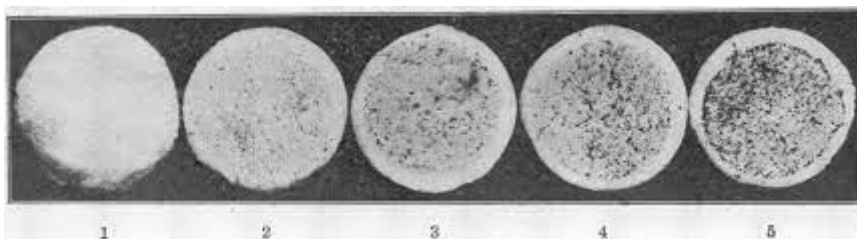
Поступак

Филтер се стави у апарат, а испод њега пријемни суд за млеко. У боцу са филтером сипа се 500 ml млека и сачека да се садржај процеди (од 5 до 40 секунди). Груба нечистоћа остаје на филтеру, а према количини издвојеног талога оцењује се

степен чистоће млека, упоређује се са стандардним еталонима према којима постоји 5 степена нечистоће.

Хигијенска исправност млека се оцењује као:

1. Чисто млеко без трагова нечистоће
2. Доста чисто млеко, са малим траговима нечистоће
3. Сумњиво млеко, са јасним траговима нечистоће
4. Нечисто млеко, са мањим или већим наслагама нечистоће
5. Јако запрљано млеко.



Слика 51. Еталони са степенима нечистоће млека

Овом методом се поред одређивања нечистоће може видети да ли је млеко добијено од болесних крава, уколико се на филтеру појави крв и сл.

15. ДОКАЗИВАЊЕ СРЕДСТАВА ЗА КОНЗЕРВИСАЊЕ И ФАЛСИФИКОВАЊЕ МЛЕКА

15.1. Средства за конзервисање млека

Млеко представља секрет млечне жлезде и забрањено је додавање било које супстанце која би нарушила основни састав млека. У већини земаља забрањено је додавање средстава за конзервисање која су штетна са хигијенске тачке гледишта, а додавање тих средстава у циљу одржавања свежине млека одвраћа пажњу произвођача од мера за бољу хигијену добијања млека и његовог чувања.

15.1.1. Доказивање формалина по Jenkins-u

Прибор

- Пипета од 10 ml
- Пипета од 5 ml
- Епрувета

Реагенси

- Концентрирана HCl $\rho=1,19$
- 5% раствор $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Поступак

У епрувету се сипа 10 ml млека, 5 ml концентроване HCl и 1-2 капи раствора FeCl_3 , па се садржај епрувете постепено загрева. Појава љубичасте боје је знак да је у млеко додат формалин.

15.1.2. Доказивање калијум дихромата

Прибор:

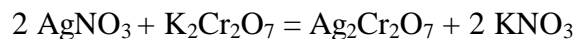
- Пипета од 5 ml
- Епрувета

Реагенси

- 2% раствор AgNO_3

Поступак

У епрувету се сипа 5 ml млека и 5 ml 2% раствора AgNO_3 . Уколико је у млеко додат калијумдихромат појавиће се жута или црвенкастожута боја као резултат реакције сребронитрата и калијум дихромата:



Млеко не мења боју уколико нема додатог калијумдихромата.

15.1.3. Доказивање борне киселине

Најједноставнији начин за доказивање борне киселине је њена реакција са вишевалентним алкохолима као што су манитол, глицерол и сл., када се ствара органски везана борна киселина, која је много више јонизована од обичне.

Прибор

- Ерленмајерова колба од 50 ml
- Пипета од 20 ml
- Пипета од 2 ml
- Епрувета (2 комада)

Реагенси

- раствор NaOH (n/10)
- фенолфталеин
- 50% глицерин

Поступак

У ерленмајер колбу сипа се 20 ml испитиваног млека и 2 ml 1% раствора фенолфталеина, па се садржај у ерленмајер колби неутралише помоћу раствора NaOH док се не добије бледо црвенкаста боја. Садржај из ерленмајер колбе се подели у две епрувете. У једну се сипа иста количина 50% глицерола неутралисаног према фенолфталеину, а у другу иста количина дестиловане воде. Ако у епрувети са глицеролом нестане боје то је знак да је млеко конзервисано борном киселином.

15.1.4. Доказивање водоник-пероксида

У појединим земљама (са изузетно топлом климом) водоникпероксид се користио за конзервисање млека, као замена за пастеризацију, за дуже чување млека. Погодан је за примену јер не долази до реакције са састојцима млека, лако се уклања пре потрошње или прераде, лако се примењује и није скуп. Чак су поједини стручњаци подржавали идеју додавања водоникпероксида у млеко у циљу продужења трајности. Нашим Правилницима није дозвољено додавање

водоникпероксида и његово додавање у млеко није добро решење јер треба радити на унапређењу хигијене добијања и транспорта млека.

Прибор

- Пипета од 5 ml
- Епрувета

Реагенси

- Раствор ванадијумове киселине (2 g ванадијумове киселине раствори се у 100 ml 20% сумпорне киселина)

Поступак

У епрувету се сипа 5 ml млека и дода 5 капи раствора ванадијумове киселине. Уколико је водоникпероксид присутан појавиће се црвена боја. Овом реакцијом може да се докаже садржај водоникпероксида од 0,01%.

15.1.5. Доказивање натријум карбоната и бикарбоната

Натријум карбонат и бикарбонат се додају у млеко да неутралишу насталу млечну киселину, немају антисептична својства као горе наведени конзерванси, па развој микроорганизама у таквом млеку није заустављен. Употреба ових средстава је изузетно штетна, јер се микроорганизми несметано развијају, што се не може утврдити на основу степена киселости млека.

Прибор

- Пипета од 3 ml
- Епрувета

Реагенси

- 0,2% раствор розолне киселине

Поступак

У епрувету се сипа 3 ml млека, за које се сумња да садржи карбонате, и 3 ml алкохолног раствора розолне киселине. Садржај епрувете се промеша и посматра боја. Млеко без додатка соде бикарбоне обојиће се мрко-жуто, док ће оно са додатком соде имати црвену боју. При анализи млека са повећаним степеном киселости не добијају се задовољавајући резултати.

15.2. Доказивање средстава за фалсификовање млека

Фалсификовањем млека мења се хемијски састав млека, као и хранљиви, хигијенски и технолошки квалитет млека.

- ▶ Основне врсте фалсификовања млека су:
 1. Додавање воде
 2. Додавање конзерванса
 - за неутрализацију киселости
 - антисептици
 3. Обирање
 4. Мешање различитих врста млека – најчешће се у козије или овчије додаје кравље млеко

15.2.1. Додавање воде

Додавање воде представља најчешћи облик фалсификовања млека, којим се смањује његова хранљива вредност. Додавање воде може представљати и извор опасне контаминације, микробиолошке и хемијске, уколико додата вода није квалитета воде за пиће.

Приликом додавања воде у млеку се смањује садржај појединих састојака, па се одступање садржаја појединих састојака од просечне вредности може користити за доказивање разводњавања.

Најчешће се додата вода доказује одређивањем тачке мржњења.

15.2.2. Доказивање скроба и сахарозе у млеку

Додавање скроба и сахарозе, некада и соли у млеко врши се са циљем да се сакрије фалсификовање млека са водом. Скроб и сахароза, као тежи, повећавају специфичну тежину млека која се смањује са додавањем воде. Због тога приликом контроле квалитета млека никада не треба одређивати само један параметар, нпр. специфичну тежину или суву материју млека, већ и садржај млечне масти.

Доказивање скроба у млеку

Прибор:

- Пипета од 5 ml
- Пипета од 3 ml
- Епрувета

Реагенси

- 0,5% раствор јода

Поступак

У епрувету се сипа 5 ml испитиваног млека и 3 ml 0,5% раствора јода, па се садржај епрувете промеша и посматра боја. У присуству скроба млеко ће се обојити у плаву због реакције скроба и јода. Уколико боја остаје непромењена значи да у млеко није додат скроб.

Доказивање сахарозе у млеку

Прибор:

- Пипета од 2 ml
- Пипета од 8 ml
- Пипета од 10 ml
- Епрувета
- Водено купатило

Реагенси

- 4% раствор HCl
- Засићени ратвор амонијум молибдената

Поступак

У епрувету се сипа 10 ml млека, дода 2 ml засићеног раствора амонијум молибдената и 8 ml 4% раствора соне киселине. Садржај епрувете се добро измеша и држи у воденом купатилу 5 минута на температури од 80 °C. Уколико млеко садржи минимум 0,4% сахарозе појавиће се плава боја.

16. КОНТРОЛА ПАСТЕРИЗАЦИЈЕ

У млеку има више од 60 ензима који потичу из ћелија млечне жлезде, крвне плазме, леукоцита и микроорганизама. Доказивањем присуства одређених ензима може се утврдити режим пастеризације.

Ензим алкална фосфатаза се инактивише нешто изнад захтева у температури и времену потребних за уништавање најотпорнијих патогених микроорганизама, односно при режиму ниске пастеризације (30 минута, на температури од 63-65 °C) и краткотрајне пастеризације (15-20 секунди, на температури од 72-75 °C), па је прихваћено да се користи за проверу примењеног режима ниске и краткотрајне пастеризације.

Пероксидаза се налази у сировом млеку и потиче из ћелија млечне жлезде. Разара се при температурама изнад 80 °C. Овај ензим се користи у контроли високе пастеризације (20 секунди, на температури од 82 °C).

16.1. Доказивање алкалне фосфатазе

Доказивање алкалне фосфатазе заснива се на разградњи естара фосфорне киселине у алкалној средини при чему се ослобађа фенол који се доказује индикаторима или се мери активност алкалне фосфатазе на основу количине издвојеног фенола у μg који ослобађа 1 ml узорка. За доказивање алкалне фосфатазе користи се више метода, од којих је референтна - флуориметријска метода, а рутинска је метода по Андерсену и Петерсену.

16.1.1. Одређивање активности алкалне фосфатазе

Стандардом SRPS EN ISO 11816-1:2015/IDF 155 Млеко и производи од млека - Одређивање активности алкалне фосфатазе - Део 1: Флуориметријска метода за млеко и млечне напитке, утврђује се флуориметријска метода за одређивање активности алкалне фосфатазе у сировом и термички обрађеном пуномасном, делимично обраном, обраном и ароматизованом млеку. Метода се примењује на млеко и млечне напитке од крављег, овчијег и козјег млека. Она се, такође примењује на млеко у праху након реконституисања. Инструментом могу да се читају активности до 7.000 милијединица по литру (mU/l). Ако је активност већа од 7.000 mU/l, онда се изврши разблаживање млеком без алкалне фосфатазе, тако да се добије вредност која није већа од 7.000 mU/l.

Принцип

Одређивање активности алкалне фосфатазе у млеку и производима од млека користи се за контролу пастеризације. Активност фосфатазе мери се количином активне алкалне фосфатазе присутне у производу, а изражава се количином фенола у μg који ослобађа 1 ml узорка или 1 ml реконституисаног производа у праху.

Узорак млека се разблажи пуфером рН=10,6 и инкубира 1 h на температури 37 °С, после чега се, ако је у узорку присутна алкална фосфатаза, ослобађа фенол из додатог динатријум фенилфосфатног пуфера који се спектрофотометријски мери након реакције са хинонимидом.

Прибор и апарати:

1. Аналитичка вага
2. Водено купатило, температуре 37 °С±1
3. Спектрофотометар, читавање на таласној дужини 610 nm
4. Епрувете 16 или 18 x 150 mm, градуисане на 5 и 10 ml
5. Стаклени левак, пречника 5 cm
6. Филтер папир
7. Лакмус папир

Реагенси:

1. Свеже прокључала дестилована вода (без CO₂)
2. Баријум-борат-хидроксид пуфер
3. Пуфер за развијање боје
4. Пуферни супстрат
5. Цинк – бакар преципитат
6. ВQC (2,6-дибром-хинон-хлоримид) раствор (*Gibb-ov* реагенс)
7. Пуфер за разблажење боје
8. Раствор бакар сулфата
9. Раствор 0,5 mol/l натријум хидроксида
10. Стандардни раствор фенола

Поступак

Припрема узорка – Узорак млека анализирати непосредно након узорковања или најдуже после два дана чувања у фрижидеру. Пре анализе узорак добро измешати и ако је потребно загрејати на 35 °С. Пипетом пренети по 1 ml млека у две епрувете, користећи једну епрувету за додатну анализу. Епрувета која се користи у додатној анализи прекрије се станиолом и стави се да кључа 2 минута у чаши са водом, а затим се охлади на собну температуру. Даље се ова проба и проба са узорком третирају на исти начин.

Додати у сваку епрувету по 10 ml полазног супстрата, измешати и инкубирати у воденом купатилу на 37 °С, 60 минута, уз повремено мешање. Затим се садржај епрувете остави да кључа у воденом купатилу и охлади на собну температуру. Након додатка по 1 ml цинк-бакарног преципитата у сваку епрувету, снажно промешати, садржај филтрирати кроз сув филтер папир одбацивши првих неколико капи, рефилтрирати ако је неопходно и сакупити 5 ml бистрог филтрата у друге епрувете. Затим додати у сваки филтрат по 5 ml пуфера за развијање боје 0,1 ml ВQC раствора, измешати и оставити 30 минута на собној температури да се развије боја. Мерити апсорбанцију у узорку у односу на слепу пробу на 610 nm.

Ако је апсорбанција узорка већа од вредности измерене за стандард који садржи 20 µg потребно је направити адекватно разблажење. Разблажење се прави тако што се измеша 1 запремина узорка са још једном која је термички третирана до кључања у циљу инактивације ензима.

Припрема стандардне криве – Потребно је припремити серију стандардних раствора који садрже 0 (слепа проба), 2, 5, 10 и 20 µg фенола/епрувети на следећи начин: у епрувету пипетом пренети 1 ml воде и 1 ml из 4 стандардна раствора фенола, респективно, сваки у једну од 5 епрувета. У сваку епрувету се затим додаје 1 ml раствора бакар-сулфата, затим 5 ml пуфера за разблажење боје, па 3 ml дестиловане воде и на крају 0,1 ml ВQC раствора. После 30 минута измерити апсорбанцију стандардних раствора на 610 nm. Стандардна крива треба да буде права линија, а представља вредност апсорбанције насупрот количини фенола у µg. На основу вредности апсорбанције, помоћу стандардне криве, одредити садржај фенола у испитиваном узорку млека (µg). Активност фосфатазе израчунава се по формули:

$$\text{Активност фосфатазе} = 2,4 \times A \times D$$

Где је:

A – садржај фенола прочитан са стандардне криве (µg)

D – фактор разблажења (ако нема разблажења D=1)

Разлика резултата одређивања активности фосфатазе у две пробе истог узорка који је анализирао један аналитичар на истој апаратури у кратком временском интервалу не сме бити већа од 2 µg фенола.

16.1.2. Фосфатазна проба методом по Андерсену и Петерсену

Принцип и примена

Ова метода се заснива на принципу доказивања присуства алкалне фосфатазе која катализује хидролизу естара фосфорне киселине, при чему се ослобађа фенол, који се доказује помоћу индикатора (дибром-хинон-хлоримидом) са којим даје плаву боју.

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) конична посуда од 100 ml;
- 2) пипете од 10 ml, 5 ml и 1 ml;
- 3) мензура од 50 ml;
- 4) водено купатило (38 °C).

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) пуферни раствор А; 2,2 g анхидрованог натријум-карбоната и 8,7 g натријум-бикарбоната раствори се у дестилованој води и допуни до 1000 ml;
- 2) супстратни раствор В; 1,1 g динатријум-фенил-фосфата раствори се у дестилованој води и допуни до 1000 ml;
- 3) реагенс на фенол, раствор С; 50 mg 2,6-дибром-хинон-хлоримида раствори се у 8 ml 96%-ног етанола. Раствор мора да буде жуте боје и да се обавезно чува у фрижидеру.

Поступак доказивања фосфатазе

Припреми се смеша раствора А и раствора В тако што се на 50 ml раствора А одмереног пипетом додаје 5 ml раствора В. Од те смеше одмери се пипетом 10 ml и пренесе у епрувету. Теме се дода 1 ml млека, промућка и остави да стоји у воденом купатилу или термостату 15 минута на 38 °С, да би се омогућило деловање алкалне фосфатазе на супстрат. После инкубације у исту епрувету се унесе неколико капи раствора С и садржај промућка. Сирово и недовољно пастеризовано млеко или пастеризовано млеко помешано са сировим млеком, дају раствору плаву боју, што се означава као позитивна реакција.

16.2. Одређивање пероксидазе

Пероксидаза је оксидоредуктаза која у присуству акцептора кисеоника катализује разградњу водоник-пероксида на воду и насцентни (атом) кисеоник. Акцептор кисеоника се при томе оксидује и мења боју.

За доказивање пероксидазе користи се више метода, а једна је метода по *Storchu*. При употреби ове методе акцептор је парафенил-диамин, који даје раствору плаву боју.

16.2.1. Пероксидазна проба методом по *Storchu*

Апаратура и прибор

Поред уобичајене лабораторијске опреме, користе се:

- 1) епрувете;
- 2) пипета од 5 ml.

Реагенси

Користе се следећи реагенси:

- 1) 2%-ни раствор парафенил-диамина, 2 g парафенил-диамина се раствори у мало 96% етанола, а затим допуни водом до 100 ml, пре употребе треба проверити раствор јер је непостојан;
- 2) 1%-ни раствор водоник-пероксида (свеже припремљен).

Поступак доказивања пероксидазе

Пипетом се одмери 5 ml млека и унесе у епрувету. Томе се дода две капи 2%-ног раствора парафенил-диамина и једна кап 1%-ног раствора водоник-пероксида, промеша се. Остави се да реагује један минут. Плаво обојење даје позитивну реакцију, што је доказ да млеко није загревано на температури од преко 80 °C. Кувано млеко и млеко загревано на температури од преко 80 °C дају негативну реакцију, односно боја млека остаје бела.

ПОГЛАВЉЕ V

ХИГИЈЕНСКИ КВАЛИТЕТ МЛЕКА

Одређивање укупног броја микроорганизама

Доказивање инхибиторних материја у млеку

Одређивање броја соматских ћелија



17. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНОГ БРОЈА МИКРООРГАНИЗАМА У МЛЕКУ

Млеко захваљујући свом саставу представља идеалну средину за раст и размножавање великог броја микроорганизама, укључујући и неке патогене микроорганизме. Одређивање укупног броја микроорганизама представља најсигурнији начин за процену хигијенске исправности млека.

Одређивање укупног броја микроорганизама у млеку може се вршити применом следећих метода:

- Директно микроскопско одређивање укупног броја бактерија у млеку по *Brecd-у*,
- Одређивање броја бактерија засејавањем на хранљиву подлогу,
- Методом проточне цитометрије - *VastoScan*,
- Индиректне методе засноване на одређивању биохемијске активности микроорганизама – редуктазна проба.

17.1. Директан метод одређивање укупног броја бактерија у млеку по *Brecd-у*

Овом методом одређује се укупан број бактерија директним бројањем у размазу млека под микроскопом.

Прибор и материјал

- Узорак млека;
- Шаблон са уцртаним квадратом ($p=1\text{ cm}^2$);
- Микроскоп;
- Раствор I – метиленско плаво (1 g) се раствори у загрејаном 95% етанолу (54 ml), а затим постепено додаје ксилол (40 ml) и глацијална сирћетна киселина (6 ml);
- Раствор II – измешати 96% етанол (54 ml) и тетрачлоретана (40 ml) и загрејати на око 70 °C, а затим постепено додати и растворити метиленско плавило (1 g). Када се растворена боја охлади, додати глацијалну сирћетну киселину (6 ml).

Поступак

Узорак млека добро промешати и стерилном микропипетом нанети 0,01 ml млека на микроскопску плочицу испод које је стављен шаблон са уцртаним квадратом површине 1 cm^2 . Езом равномерно распоредити млеко у оквиру квадрата, оставити да се суши на ваздуху 5 минута, уз загревање у термостату на 45 °C. Када се размаз осуши урони се у посуду са раствором I, у коме се остави 4

минута. Након тога препарат се потопи у раствор II, одмах се извади, оцеди се боја и осуши на ваздуху. Обојени и осушени препарат се пажљиво испере са водом, поново осуши и микроскопира. Бактерије су обојене плаво, бројање се врши коришћењем имерзионог објектива.

Бактерије се броје у 30 – 50 видних поља (уколико је већа контаминација броји се у 30 видних поља и обрнуто). Све добијене вредности се саберу, а збир се подели са бројем видних поља у којима је вршено бројање бактерија. Добијена средња вредност помножи се са фактором микроскопа и са 100, добија се број бактерија у 1 ml.

Недостатак ове методе је што се броје и мртве и живе бактеријске ћелије, па добијени број може бити већи од реалног броја.

17.2. Одређивање броја микроорганизама засејавањем на хранљиву подлогу

17.2.1. Индиректан метод одређивања по Коху

Ова метода се сматра најтачнијом методом, дефинисана је као референтна метода у стандарду SRPS EN ISO 4833-1:2014 Микробиологија ланца хране – Хоризонтална метода за одређивање броја микроорганизама – Бројање колонија на 30 °C техником наливања плоче.

Овом методом се одређује број бактерија бројањем формираних колонија на одговарајућој хранљивој подлози која је инкубирана на температури од 30 °C, 72 сата. Применом ове методе пошло се од тога да једна бактеријска ћелија образује једну колонију. Пошто се укупан број микроорганизама у сировом млеку креће од неколико хиљада до преко милион у 1 ml, потребно је направити одговарајућа разређења да би омогућили свакој бактеријској ћелији да формира колонију. Разблажења се праве у стерилном физиолошком раствору, а број разблажења зависи од очекиваног броја микроорганизама у 1 ml.

Реагенси:

- Физиолошки раствор, 8,5 g NaCl раствори се у дестилованој води, разлије у епрувете или Ерленмајер боце и стерилише у аутоклаву 20 минута на температури од 115 °C.
- Подлога за укупан број бактерија – Екстракт квасца (2,5 g), триптон (5 g), декстроза (1 g), агар (15 g) и обрано млеко у праху (1 g) растворити у дестилованој води (до 1000 ml), а затим стерилисати у аутоклаву 15 минута на температури од 121 °C. Уколико се подлога одмах користи охлади се на 45 °C, а ако се користи касније чува се на хладном (1-5 °C) и тамном месту до месец дана, а пре употребе отопи у воденом купатилу које кључа, а затим охлади на 45 °C.

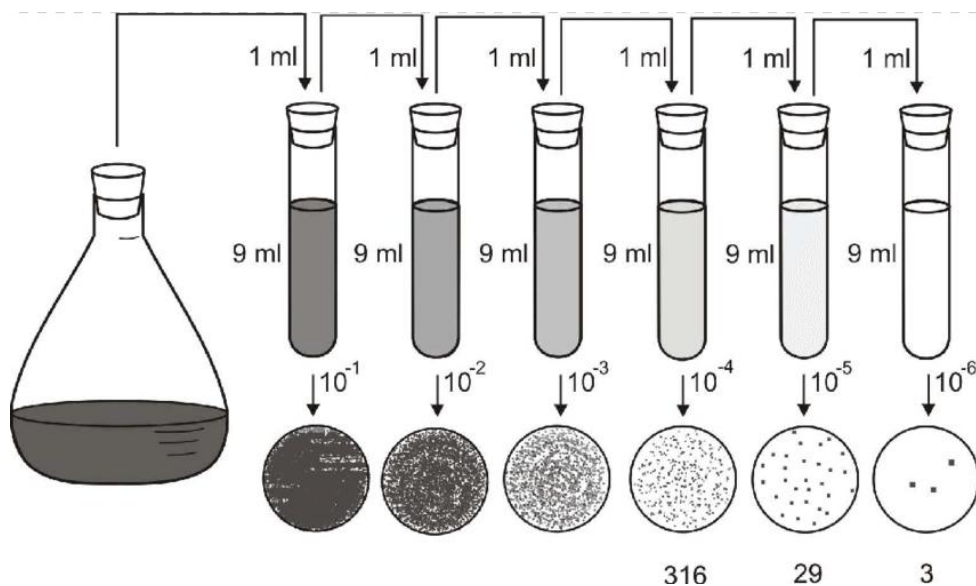
Прибор

- Ерленмајер боце, 250 ml,
- Петри шоље, Ø 90 – 100 mm,
- Пипете од 1 и 10 ml,
- Епрувете,
- Водено купатило 45±1 °C и
- Термостат 30±1 °C.

Поступак

Из добро промешаног узорка стерилном пипетом се пренесе 20 ml млека у стерилну Ерленмајерову посуду и дода 180 ml стерилног физиолошког раствора, а затим добро хомогенизује мешањем. На овај начин се добија основно разређење 1:10. Следеће разблажење се прави тако што се из основног разређења узима 1 ml и

преноси у 9 ml стерилног физиолошког раствора. Ово је разређење 1:100, које се добро хомогенизује, а затим се из њега на исти начин прави следеће разређење све док се не направи потребан број разблажења.



Слика 52. Одређивање укупног броја бактерија засејавањем децималних разблажења млека на хранљиву подлогу

Из сваког разређења потребно је у три Петри шоље отпипетирати по 1 ml разблажења, а затим се прелије са 10-15 ml припремљене хранљиве подлоге за одређивање укупног броја бактерија. Садржај у Петри шољи се затим измеша померањем Петри шоље у различитим правцима како би се разблажење равномерно распоредило по подлози. Оставе се да се подлога стегне, а затим преносе у термостат на 30 ± 1 °C и инкубирају 72 ± 3 сата.

Бројање колонија

За бројање се одаберу плоче на којима је израсло од 30 до 300 колонија. Изброје се све колоније израсле у Петри плочи. Бројање се може вршити слободним оком, лупом или бројачем. Број бактерија се добија када се одреди просечан број колонија у три Петри шоље и помножи са величином разређења, а исказује се као број бактерија у 1 ml.

17.2.2. Алтернативна - Петри-филм метода

У циљу уштеде времена и поједностављења поступка одређивања укупног броја колонија микроорганизама, појавиле су се нове методе од којих је једна Петри-филм. Петри-филм плоче за одређивање укупног броја аеробних микроорганизама састоје се од стандардне хранљиве подлоге и желатинозне материје растворљиве у хладној води. У подлози се налази и црвена индикаторска боја која боји све колоније у црвено и олакшава бројање колонија. Црвено обојене колоније се тако лакше разликују од непрозирних честица хране које могу да изазову забуну код бројања. Употребом ових плоча елиминише се дуготрајан поступак припреме посуда са подлогом/агаром. На самој плочи је уграђена мрежа

која олакшава бројање колонија, помажући да се добију брзи, прецизни и доследни резултати.

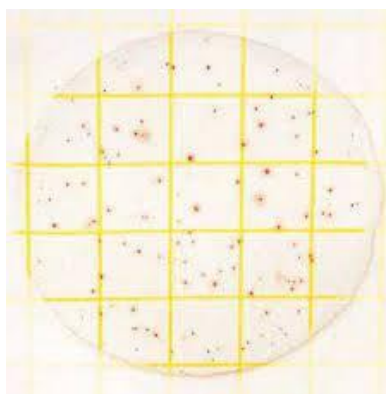
Начин рада

У центар на површину хранљиве подлоге из одговарајућег разблажења пренесе се 1 ml. Полако се спусти горњи део филма и посебним притискивачем разблажење распореди по хранљивој подлози.

Петри-филм плоче се инкубирају на $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 48 ± 3 h. Опсег бројања на Петрифилму је отприлике 30 до 300. Дизајн и величина Петри-филм плоча захтева минималан простор у инкубатору. Након завршене инкубације броје се црвене колоније на подлози, а може се користити и читач Петри-филм плоча.



Слика 53. Употреба Петри филма



Слика 54. Петри филм са израслим колонијама
(извор: https://www.3m.com/3M/en_US/food-safety-us/foodandbeveragetests/petrifilm-plates/)

17.3. Метода проточне цитометрије

Данас се за одређивање укупног броја бактерија у млеку све више користе инструменталне методе којима је могуће у кратком временском периоду анализирати велики број узорака, а резултати ових анализа служе за класирање и касније плаћање млека. Инструменталне методе су развијене на принципу проточне цитометрије којим се броје појединачне бактерије у млеку.

Стандардом SRPS ISO 16297:2020 – *Број бактерија – Протокол за процену алтернативних метода*, утврђен је протокол за процену инструменталних алтернативних метода за укупан број бактерија у сировом млеку које потичу од различитих врста животиња. Овај документ је допуна стандардима SRPS ISO 16140-2:2016 *Микробиологија ланца хране – Валидација методе – Део 2: Протокол за валидацију алтернативних (заштићених) метода у односу на референтну методу* и SRPS ISO 8196:2020|IDF 128 (сви делови) – *Млеко и процена укупне тачности алтернативне методе анализе млека*.

17.3.1. BactoScan FC

Принцип рада BactoScan-а

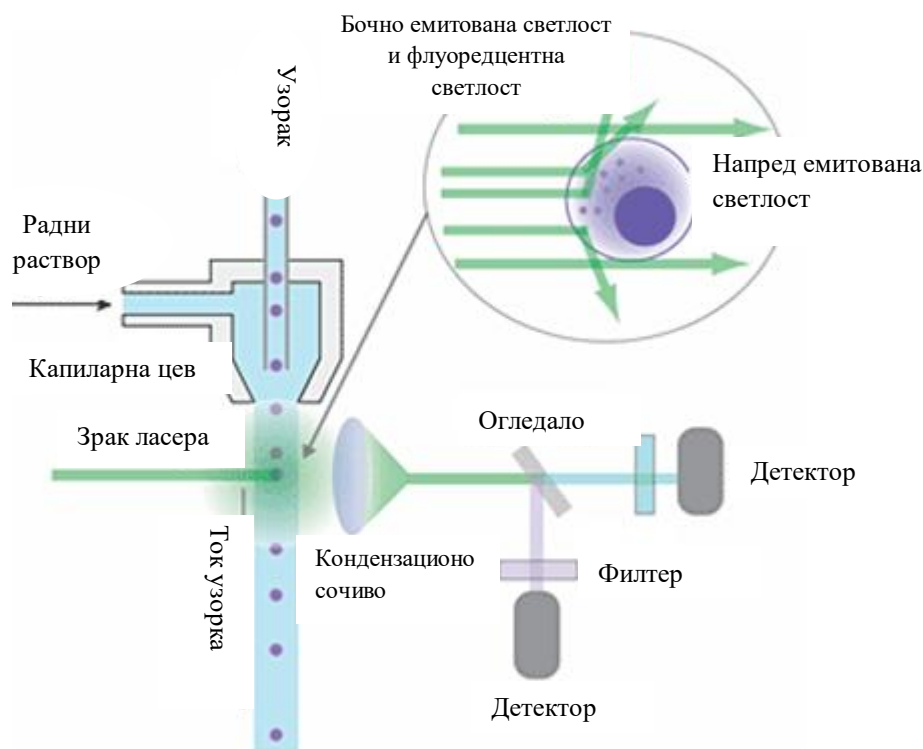
BactoScan FC користи технологију проточне цитометрије за бројање бактерија. Инструмент броји само бактерије које су обојене флуоресцентном бојом. Утицај других честица као што су масне капљице, протеини и соматске ћелије, избегавају се претходном обрадом узорка помоћу растварача. Апарат ради потпуно аутоматски.

Поступак рада инструмента BactoScan-а

1. Узорак се пре анализе загреје (20-35 °C) јер на температурама испод 8 °C може доћи до проблема са дистрибуцијом масти.
2. На самом инструменту постоји мешалица која омогућава ефикасно мешање млека.
3. Аутоматска пипета BactoScan-а FC отпипетира 4,5 ml млека у које додаје боју која боји DNK бактерије и чини их уочљивим. Ако бактерија није обојена инструмент неће моћи да је изброји.
4. Млеко са реагенсом се убацује у јединицу за инкубацију. Све компоненте у млеку, осим бактерија се разграђују током периода инкубације. Након 8,5 минута инкубације, узорак се убризгава у проточну ћелију. Након напуштања узорка јединица за инкубацију се аутоматски очисти пре примања следећег узорка.
5. Бактерије пролазе једна за другом кроз капиларну цев, као веома сићушни низ перли. Када бактерије прођу кроз цев, осветљава их сноп светлости ласера, узрокујући да емитују црвено светло са једним светлосним импулсом за сваку бактерију која пролази кроз зрак.
6. Флуоресцентно светло детектује веома осетљив детектор (*Photo Multiplier Tube* - PMT), који даје електронске импулсе.

7. Детектор шаље електрични импулс за сваку бактерију која прође. Сваки од ових сигнала се броји, чиме се добија индивидуални број бактерија (IBC). Лабораторије су обавезне да представе своје резултате у јединицама за формирање колонија (CFU), који се добијају методом бројања плоча. На основу табеле конверзије IBC се прерачунава у CFU.
8. Анализа траје око девет минута по узорку.
9. Цео проточан систем се испира између сваког узорка, као и пипета и мешалица. Сви филтери се такође испирају, супротно од кретања млека.

Инструмент броји све неоштећене бактеријске ћелије, без обзира да ли су живе. Класичне микробиолошке методе одређивања укупног броја бактерија, бројањем формираних колонија на одговарајућој хранљивој подлози, омогућавају да из анализираниог узорка пребројимо само живе бактерије или које могу да расту у одређеној врсти хранљиве подлоге и на одређеној температури. Не постоји хранљива подлога која би омогућила раст и размножавање свим бактеријама присутним у узорку, да би добили сличан резултат као код VactoScan-a.



Слика 55. Принцип рада VactoScan-a
(извор: <https://lactanet.ca/en/how-does-a-bactoscan-work/>)

17.4. Редуктазна проба

Овај метод, за индиректно одређивање укупног броја микроорганизама у млеку, заснива се на одређивању биохемијске активности микроорганизама и то на основу измене оксидоредукционог потенцијала и одређивања количине пирувата. Размножавањем микроорганизама у млеку смањује се оксидоредукциони потенцијал млека. Промена, односно смањење може се утврдити одговарајућим индикаторима (метиленаплаво или резазурин). У односу на засејавање микроорганизама на хранљиву подлогу ова метода је једноставна, јефтина и брза, и може се анализирати већи број узорка, али није прецизна јер се одређује само приближан број микроорганизама у млеку. Редуктазна проба се раније користила као један од елемената у оцењивању квалитета сировог млека, али не даје праву и тачну слику о броју микроорганизама у сировом млеку.

Поред добрих страна, ова метода има и своје недостатке који се морају узети у обзир при интерпретацији резултата. Температура на којој се изводи ова проба је 37 °С, а она није оптимална за развој свих група микроорганизама који се могу наћи у млеку, такође ни све групе микроорганизама не мењају редокс потенцијал на исти начин. Најјаче редукујуће бактерије су бактерије млечне киселине, нпр. *Str. lactis* као и *E.coli*, док психротрофне и термофилне бактерије не утичу на промену редокс потенцијала. Различите врсте микроорганизама присутне у млеку се међусобно разликују по способности стварања ензима редуктазе.

На брзину обезбојавања утиче и киселост млека, коју треба посматрати као резултат активности микроорганизама, температура и начин чувања млека, па је време редукције дуже у претходно охлађеном млеку и добија се погрешна слика о мањем укупном броју микроорганизама, затим температура на којој се врши анализа, концентрација метиленског плавила (при већој концентрацији обезбојавање траје дуже и обрнуто) и број леукоцита у млеку којима се приписује већа редукциона способност.

Најчешће се ради са метиленским-плавим и резазурином, који мењају боју при смањењу оксидо редукционог потенцијала млека услед активности микроорганизама.

Метода са метиленским-плавим

Реагенси

- 0,01% водени раствор метиленског плавог (може се чувати до 7 дана у фрижидеру)

Прибор

- Епрувете
- Пипете од 0,1 и 10 ml,
- Водено купатило на 37±0,5 °С.

Начин рада

У стерилну епрувету отпипетира се 10 ml узорка млека и дода се 0,5 ml 0,01% воденог раствора метиленскоплавог. Епрувета се затвори гуменим

запушачем, промеша и стави у водено купатило на температуру $37 \pm 0,5$ °C. Посматра се за које време ће се млеко обезбојити. Оглед треба да траје најмање два сата, а резултати се читају сваких 30 минута, тј. проверава се да ли је дошло до обезбојавања као последица редукције метиленско-плавог.

Уколико се млеко брзо обезбоји, претпоставља се да има велик број микроорганизама. Приликом читавања резултата не треба посматрати горњи слој млека 1-2 cm, јер често остаје плава боја услед оксидације из ваздуха, већ промену боје треба посматрати у осталим слојевима млека. Увек треба радити две пробе.

Bartel и *Orla-Jensen* су на основу брзине обезбојавања млека утврдили четири класе и израдили таблицу за оцењивање квалитета млека.

Табела 14. Процена броја микроорганизама у млеку на основу времена обезбојавања (*Bartel* и *Orla-Jensen*)

Класа	Квалитет	Време обезбојавања	Број микроорганизама у 1 ml млека
I	Добар	>5,5 h	$< 5 \times 10^5$
II	Средњи	2,5 - 3 h	$5 \times 10^5 - 4 \times 10^6$
III	Лош	20 минута до 2 h	$4 \times 10^6 - 20 \times 10^6$
IV	Веома лош	Мање од 20 минута	$> 20 \times 10^6$

18. ДОКАЗИВАЊЕ ИНХИБИТОРНИХ МАТЕРИЈА У МЛЕКУ

Инхибиторне материје у млеку су све материје које у млеку делују бактерицидно и бактериостатски на микрофлору млека. Од инхибиторних материја у млеку се могу наћи резидуе антибиотика, остаци средстава за прање и дезинфекцију. Све инхибиторне материје су значајне са аспекта безбедности хране и даље прераде у млечне производе.

18.1. Доказивање резидуа антибиотика у млеку

Најчешће инхибиторне материје у млеку су резидуе ветеринарских лекова, који се у млеку за јавну потрошњу могу наћи због: непоштовања каренце, предозирања, нестручне примене лекова, одсуства или неадекватне контроле.

Развијене су бројне брзе „screening“ методе помоћу којих се брзо доказују остаци антибиотика на нивоу MRL (Maximum Residual Level - максимално дозвољене концентрације). Све методе за доказивање резидуа антибиотика у млеку се могу поделити на:

- Микробиолошке,
- Ензимске колориметријске,
- Рецептор – везујуће,
- Имунолошке и
- Хемијске.

Највећу примену у пракси имају рецептор – везујуће и микробиолошке методе.

18.1.1. Микробиолошке методе за доказивање резидуа антибиотика у млеку

На тржишту се могу наћи микробиолошки инхибитор тестови различитих произвођача, за све је карактеристично дуже време инкубације и потребно је неколико сати до добијања резултата.

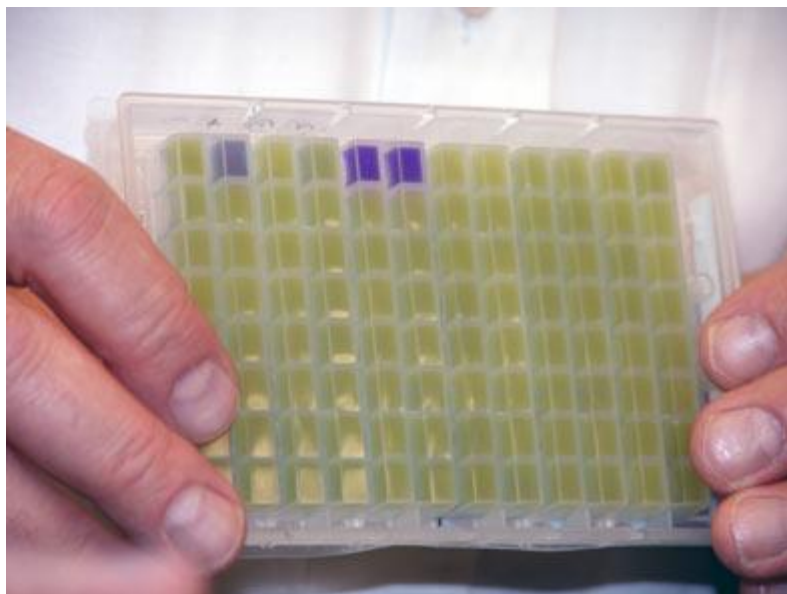
Доказивање резидуа антибиотика микробиолошким методама заснива се на инхибицији раста и активности тест-микроорганизма у одговарајућој средини због деловања инхибиторних материја у млеку. Као тест сојеви обично се користе *Bacillus stearothermophilus* var. *calcidolactis*, *B.cereus*, *B. subtilis*, *St.aureus*, *Sarcina lutea*, *St.termophylus*, *Lb.bulgaricus* и други, а за разликовање антибиотика од средстава за дезинфекцију користи се *Sacharomyces cerevisiae*, који није осетљив на присуство антибиотика. Наведеним тестовима могу се утврдити остаци β -лактама, сулфонамида, тетрациклина, макролида и аминокликозида у млеку.

Позитивна реакција одређује се променом боје индикатора или зоном инхибиције. Додати индикатор мења боју подлоге уколико млеко не садржи резидуе антибиотика, тада се тест –микроорганизам размножава и мења редокс-потенцијал. Уколико у млеку има резидуа антибиотика тест – микроорганизам се неће размножавати, неће доћи до промене редокс-потенцијала и боја остаје непромењена.

Ове методе служе само за квалитативно доказивање резидуа антибиотика у млеку.

Делво тест

Метода се заснива на принципу дифузије антибиотика из млека у агар и спречавању раста и размножавања тест организма *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*. Индикатор у подлози је бромкрезол-љубичаста Ова биохемијска квалитативна метода се примењује за потврду и/или скрининг присуства резидуа антибиотика у сировом млеку. Принцип теста је заснован на расту и размножавању *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* када у млеку нема инхибиторних супстанци (резидуа антибиотика) што доводи до промене рН вредности и промене боје индикатора, бромкрезол-љубичасте, из љубичасте у жуту. Када су у млеку присутне резидуе антибиотика *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* се не размножава и нема промене рН вредности, као ни промене боје подлоге. Сам тест траје око 140 минута.

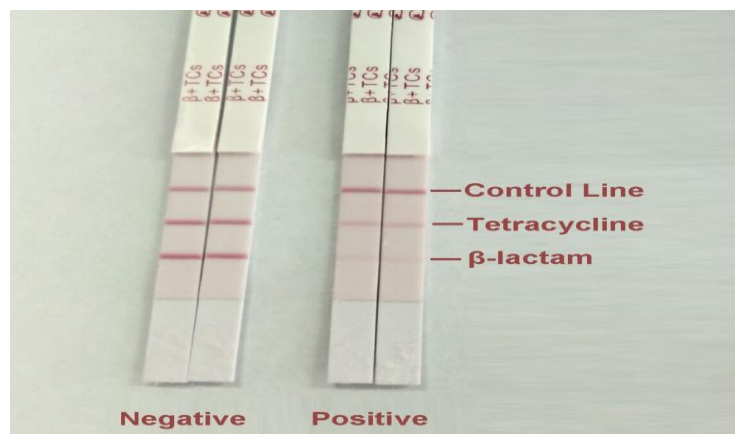


Слика 56. Пример изгледа негативне (жута поља) и позитивне (љубичаста поља) пробе након завршене инкубације (фото: аутор)

18.1.2. Рецептор везујуће методе

Развијен је велики број тестова који представљају варијанту „ELISA“ теста (*SNAP test, Charm MRL test, Beta STAR test, Delvo X-Press*, и др). Користе се за брзо откривање резидуа антибиотика (за краће од 10 мин.), на или испод утврђених максималних граница остатака. Најчешће се користе за испитивање млека на пријемној рампи млекарне, одмах из камиона, хладњака или резервоара. Тестови су робусни и флексибилни, не захтевају лабораторијску опрему и реагенсе, па се тестирање може обавити у различитим мање захтевним условима. Може се анализирати кравље, козије или овчије млеко. Очитавање резултата је након 6 минута.

Већина тестова заснива се на компетитивном принципу везивања додатог ензима и антибиотика за имуно-рецептор. Комплекс антитело-антибиотик се веже за ензим који разграђује боју или даје флуоресцентну реакцију. Поређењем интензитета реакције с контролним тестом одређује се да ли је узорак позитиван или негативан на присуство резидуа антибиотика. Слаб интензитет боје или флуоресценције тумачи се као позитиван резултат, док се већи интензитет боје или флуоресценције тумачи као негативан резултат.



Слика 57. Негативна и позитивна проба (фото: аутор)

18.1.3. Методе за потврђивање и идентификацију резидуа антибиотика

Уколико је потребно извршити потврду и идентификацију резидуа антибиотика у млеку, користе се неке од следећих метода: течна хроматографија, гасна хроматографија, електрофореза, танкослојна хроматографија и имунолошке методе.

18.2. Био тест

У млекарама се често користи метода Био-тест-а. Ово није комерцијални тест, већ представља једноставну пробу којом се потврђује да ли се од испитиваног млека употребом јогуртне стартер културе може направити јогурт тј. достићи одговарајућа киселост и квалитет груша. Недостатак овог теста је недовољна осетљивост у односу на максимално дозвољене концентрације резидуа (MRL) у храни. Односно максимална концентрација резидуа која се сматра безбедном за потрошача. Пре шире употребе тестова за доказивање присуства резидуа антибиотика у млеку примењивала се приликом одабира млека за производњу ферментисаних производа од млека. Ова метода даје информацију да ли се од датог млека употребом јогуртне стартер културе може произвести јогурт одговарајуће киселости и чврстине груша.

Поступак

1. Млеко се загрева на температуру од 95 °C у трајању од 10 минута,
2. Охлади се на температуру од 42 °C,
3. Додаје се 2,5% јогуртне културе,
4. Инкубира се 3 сата на температури од 42 °C,
5. Испитује се чврстина груша и титрациона киселост методом по Soxhlet Henkel-у, која треба да је већа од 30 °SH.



Слика 58. Различита чврстина груша и изостанак груша након три сата инкубације (фото: аутор)

19. ОДРЕЂИВАЊЕ БРОЈА СОМАТСКИХ ЋЕЛИЈА У МЛЕКУ

Правилником о квалитету сировог млека дозвољено је да стадно млеко садржи до 400.000 соматских ћелија у 1 ml. Млеко здравих крава садржи од 10.000 до 200.000 соматских ћелија у ml. По пореклу разликујемо соматске ћелије из млечне жлезде (ћелије плочастог епитела, ћелије жлезданог епитела без секреторне функције и ћелије жлезданог епитела са секреторном функцијом) и из крви (полиморфонуклеарни леукоцити, лимфоцити и макрофаги). Повећан број соматских ћелија у млеку јавља се као последица обољења вимена, али и због физичке повреде вимена.

Број соматских ћелија се може одредити:

- микроскопским прегледом узорка млека, могуће је одредити и заступљеност појединих врста ћелија;
- мерењем електричне проводљивости млека, електрична проводљивост млека се повећава када се повећа садржај минералних материја у млеку, што се дешава приликом упалних процеса и пре првих клиничких симптома;
- Флуоро-опто-електронском методом и
- индиректно на основу неких хемијских реакција између соматских ћелија (углавном леукоцита) и хемијских материја које се додају млеку (маститис тестови, одређивање каталазе).

19.1. Флуоро-опто-електронска метода

У нашој земљи захваљујући употреби инструмента *Fossomatic* могуће је анализирати велики број узорака млека и одредити број соматских ћелија применом флуоро-опто-електронске методе. То је анализатор великог капацитета (до 600 узорака на сат) који задовољава потребе фармера којима је потребно брзо и поуздано праћење здравља млечног стада и плаћање млека.

Смернице за одређивање броја соматских ћелија применом флуоро-оптоелектронских бројача дате су у међународном стандарду

SRPS EN ISO 13366-2:2008. Одређивање броја соматских ћелија - Део 2: Смернице за рад флуоро-оптоелектронских бројача.

Одређивање броја соматских ћелија може се вршити у неконзервисаним и конзервисаним (бронопол, натријум азид) узорцима млека. Пре анализе узорци се загревају на 40 ± 3 °C у воденом купатилу. Узорке треба лагано промућкати, маст не сме бити видљива на зидовима бочице. Инструмент сам врши хомогенизацију узорка и пипетирање потребне количине млека за анализу. У секције за мешање, млеко које се анализира меша се са пуфером и раствором за бојење, а затим се проточним системом мешавина транспортује до секције за бројање. Мешавина се у виду танког филма наноси на диск који ротира и замењује радни сточић микроскопа. Свака обојена ћелија се посматра флуоресцентним микроскопом, емитује електрични импулс који се филтрира, појачава и броји. Дизајн секције за бројање осигурава откривање само једне соматске ћелије одједном. Број соматских ћелија одређен овом методом представља ћелије које показују минимум

флуоресценције због бојења DNK у њиховом једру. Број соматских ћелија се изражава као број соматских ћелија у милилитру млека.

Приликом рада на инструментима мора се водити рачуна о факторима који могу утицати на мерење, а то су:

1. Фактори самог инструмента
 - Провера линеарности
 - Поновљивост
 - Нулта стабилност
 - Преносивост
 - Коришћење контролног узорка

2. Физичко хемијски и биолошки фактори
 - Састав млека
 - Узорковање
 - Дужина складиштења (не дуже од 5 дана)
 - Транспорт
 - Коришћење конзерванса

3. Калибрација инструмента

Неопходно је редовно вршити калибрацију инструмента (препорука једном месечно) са најмање пет узорака, који покривају релевантне опсеге броја соматских ћелија, одређених од стране референтне лабораторије. Неопходно је подесити сигнал инструмента тако да за сваки број соматских ћелија, читавање инструмента буде блиско вредности датај референтном методом.



Слика 59. CombiFoss™ FT- Fossomatic™ интегрисан са MilkoScan-ом (фото: аутор)

19.2. Калифорнија маститис тест (СМТ)

Овај тест се назива и брза стајска проба, изводи се чим су узети узорци млека из појединих четврти вимена, јер је за реакцију потребно присуство живих леукоцита у којима је DNK способан да реагује са површински активном материјом. Реакција изостаје у млеку после дужег стајања и чувања млека на хладном.

Заснива се на дејству површински активне материје на DNK из леукоцита млека. Долази до одвајања DNK, а протеински део спонтано прелази у гел.

За извођење овог теста користе се специјалне пластичне посуде са четири одељка. Након измузања млека у одељке се додаје реагенс, пажљиво промеша и посматра се промена конзистенције, односно појава згрушавања и стварања желатинозне масе.

У зависности од промене конзистенције односно појаве гела процењује се број соматских ћелија у 1 ml млека.



Слика 60. Посуда за извођење Калифорнија маститис теста (СМТ) (фото: аутор)

ПОГЛАВЉЕ VI

Сензорна оцена производа од млека



20. Сензорна оцена производа од млека

Већина потрошача је заинтересована за квалитет производа од млека које купују, а који најчешће одређују првенствено чулима, односно сензорном оценом. Сензорна евалуација се спроводи у различите сврхе, а најважније је:

- да се процени квалитет готових производа,
- да се контролише квалитет сировина,
- да се осмисле и развију нови производи,
- да се прати утицај сировина и адитива на квалитет производа,
- да се провери рок трајања производа током складиштења,
- да се процене конкурентски производи.

Сензорна оцена је најстарији начин провере квалитета производа од млека и подразумева процену њихових карактеристика помоћу пет основних чула (вид, мирис, укус, додир и слух). Својства намирница које се опажају чулима описују се одговарајућим терминима. У сензорној евалуацији, фокусирамо се на свако сензорно својство хране која се истражује у следећем редоследу:

- визуелни изглед помоћу чула вида,
- мирис помоћу чула мириса,
- конзистентност помоћу чула додира,
- звук помоћу чула слуха,
- укус помоћу чула укуса.

Правилан редослед оцене производа од млека је следећи:

1. Изглед производа од млека - то је прва информација или први утисак о производу. Оцењивачи посматрају и описују величину, облик, боју, изглед површине итд. користећи одговарајуће договорене термине специфичне за сваку групу млечних производа. Неки примери за описивање узорка производа од млека су:

- величина: превелика, премала, типична величина и даље испуњава услове;
- облик: конвексан, надувен, сувише низак, лепо заобљен, деформисан;
- боја: карактеристична боја, промењена, ишарана, мраморна, без сјаја;
- изглед површине: глатка, наборана, испуцала, оштећена, буђава итд.

2. Оцена мириса производа од млека, који се формира од испарљивих материја које се налазе у њему. Испарљиве материје детектују чулни органи у носној шупљини. Интензитет мириса зависи од температуре узорка, пошто се на вишим температурама ослобађа више испарљивих материја. Због тога се приликом припреме узорка мора узети у обзир температурни опсег који је нормалан за потрошњу дотичног производа од млека. Мирис се описује следећим терминима: карактеристичан, интензиван, благ, одбојан, слаб, цветан, плеснив, ужегао, нечист, хемијски, загорео, кисео, воћни, мирис на квасац, налик на мед, итд.

3. Оцена конзистенције производа од млека, која је дефинисана сензорним ћелијама, које су највише сконцентрисане на врховима прстију, али и на деснима, језику и непцу, што се може проценити само дегустацијом. Конзистенција производа од млека може се описати следећим терминима: мекана, тврда, зрнаста, глатка, лепљива, брашнаста, пастаста, жилага, мрвљива, ломљива, груба, масна итд.

4. Звук је карактеристика која се не процењује код већине производа од млека. Изузетак је квалитет сладоледа и хрскавост разних додатака као што су хрскави делови, ораси, екструдирани пиринач итд. Ову карактеристику описују следећи појмови: хрскав, шумећи, пуцкетава, врускава, недовољно изражен итд.

5. Дегустација је коначна оцена производа од млека, јер морамо са сигурношћу знати да гледамо производ који је прикладан за јело, само помоћу горе наведених чула. Ако сте у недоумици, немојте пробати производ, јер то може бити опасно по ваше здравље.

6. Укус је најважнија карактеристика сваког производа од млека и има пресудан утицај на сензорну оцену. Уочавамо интензитет следећих основних укуса: слатко, кисело, слано и горко, као и електрични, сапунаст или метални укус. Чулни органи за сваки од основних укуса налазе се у целој усној дупљи, али су концентрисани на одређеном делу језика.

ПОГЛАВЉЕ VII

Вежбе у Лабораторији за испитивање квалитета млека

Анализа сировог млека

Израда производа од млека



21. АНАЛИЗА УЗОРАКА СИРОВОГ МЛЕКА У ЛАБОРАТОРИЈИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ КВАЛИТЕТА МЛЕКА

21.1. Одређивање титрационе киселости млека

Одредити титрациону киселост по Soxhlet – Henkelu

Узорак 1.

Утрошено је _____ ml NaOH

Степен киселости млека је _____ °SH

Узорак 2.

Утрошено је _____ ml NaOH

Степен киселости млека је _____ °SH

21.2. Алкохолна проба

Узорак 1.

Млеко коагулише ДА НЕ

Узорак 2.

Млеко коагулише ДА НЕ

21.3. Одређивање тачке мржњења млека на инструменту криоскоп

Узорак 1. Сирово млеко

Тачка мржњења _____

Узорак 2. Сирово млеко са додатком 10% воде

Тачка мржњења _____

Узорак 3. Сирово млеко са додатком 50% воде

Тачка мржњења _____

Узорак 4. Сирово млеко са додатком 50% воде + 0,02 g NaCl

Тачка мржњења _____

21.4. Одређивање густине млека помоћу лактодензиметра

Очитана температура млека _____

Очитана вредност на скали лактодензиметра _____

Густина млека _____

21.5. Рад на инструменту VactoScan FC

Анализиран узорак _____

Измерен ИВС _____ и

CFU _____

21.6. Рад на инструменту Combifoss FT

Анализиран узорак _____

Број соматских ћелија (SCC) _____

Хемијски састав анализираног узорка млека

Млечна маст _____

Протеин _____

Лактоза _____

СМ _____

СМБМ _____

Уреа _____

21.7. Одређивање резидуа антибиотика у млеку

На основу резултата Делво теста попунити табелу.

Узорак	Присуство резидуа антибиотика - / +
Позитивна проба „Sulfa“	
Позитивна проба „Pen“	
Негативна проба	
Узорак 1	
Узорак 2	

22. ИЗРАДА ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА У ЛАБОРАТОРИЈСКИМ УСЛОВИМА

22.1. Производња јогурта / киселог млека

Производња јогурта / киселог млека у лабораторијским условима одвија се на следећи начин:

1. Загревање млека на температуру од 90 – 95 °С, у трајању од 10 до 15 минута, уз мешање.
2. Хлађење млека на температуру од 42 °С.
3. Додавање око 2,5% техничке културе, мешање млека.
4. Уколико се производи кисело млеко, након додавања техничке културе и мешања, млеко се разлива у одговарајуће посуде, пре инкубације.
5. Млеко се оставља на температури од 40 - 42 °С, око 3 сата.
6. Када се добије густ груш, хомогене конзистенције, премешта се у фрижидер. Након завршене ферментације у производњи јогурта добијени груш се промеша пре хлађења.



Слика 61. Кисело млеко

22.2. Производња кефира

За производњу кефира користе се кефирна зрна, која се додају као стартер култура, а након завршене ферментације издвајају се из производа. Технолошки процес производње кефира је следећи:

1. Пастеризовано млеко се охлади на собну температуру, око 18 - 20 °С.
2. Додаје се око 2 - 3% кефирних зрна.
3. Инкубација траје око 24 сата на температури од 20 - 22 °С.
4. Након завршене инкубације кефирна зрна се одвајају од осталог млека.
5. Одвојена кефирна зрна се испирају водом и поново преносе у млеко, да би се започео нови процес ферментације.
6. Процеђено млеко се оставља на температуру од 10 до 15 °С, следећа 24 сата, када долази до интензивнијег раста квасаца.
7. Након завршене ферментације кефир се чува на хладном, до 8 °С.



Слика 62. Кефирна зрна (фото: аутор)

22.3. Сиришно ферментациона проба

Ова проба даје податке о погодности млека за израду сирева. Може се користити и за испитивање сирила и чистих култура, које се употребљавају у сирарству.

Прибор

1. Епрувета
2. Поклопци за епрувете од поцинкованог лима или порцелана
3. Метални статив
4. Водено купатило
5. Пипета од 1 ml
6. 0,5% раствор сирила у праху (јачине 1:80.000)

Ток рада

У стерилисану епрувету сипа се 1 ml раствора сирила и дода се 10 ml млека (до 1 cm испод врха епрувете), садржај се промеша и стави у водено купатило или термостат на температуру од 38-40 °C. Добро и свеже млеко мора се згрушати у току 20 минута, а после 12 часова треба да има компактан груш.

Млеко слабог квалитета има неку од следећих мана:

- Загушљив и кисели мирис или задах превирања,
- Слан, горак или сапуњав укус,
- Слој павлаке је избушен мехурићима гаса или надувен,
- Испод павлаке се налази слој зелене сурутке,
- Груш није компактан и на дну је зрнаст или љигав,
- Млеко није згрушано.

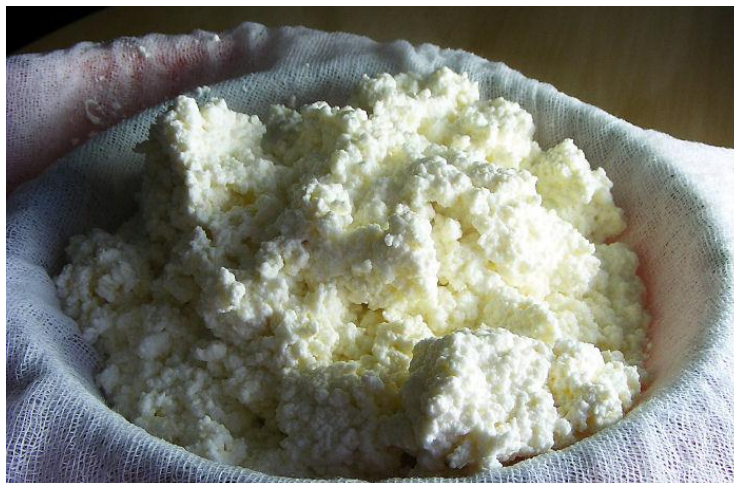
22.4. Производња сира

22.4.1. Производња свежег ситног сира

Свежи сир је млечни производ који настаје издвајањем протеина, млечне масти, минералних материја и витамина из млека деловањем киселине или деловањем киселине и мале количине сирила или комбинацијом киселине и повишене температуре на млеко. Ситан сир има својствен мирис и благо кисео укус, уједначену белу боју, мекану уједначену конзистенцију, без грудвица и отпуштања сурутке.

Поступак производње свежег ситног сира

1. Пастеризација млека на 65 °C / 30 минута или 75 °C / 15 секунди, постепено загревати уз мешање.
2. Охладити на температуру од 20-25 °C.
3. Додавање стартер културе и сирила.
4. Инкубација траје око 18 до 24 сата на температури од 20-25 °C.
5. Сечење груша на коцке величине 5 до 7 cm, оставити да се издвоји сурутка.
6. Полако окретати груш и пребацити у цедила, груш се цеди самопресовањем.
7. Хлађење на температуру <8 °C.
8. Сир се може одмах конзумирати или му се могу додати различити зачини.



Слика 63. Свежи ситан сир (фото: аутор)

22.4.2. Производња полутврдог и тврдог сира

Полутврди сиреви су најзаступљенији сиреви у свету и одликује их средње „куван“ груш, а сирно тесто је чврсто, често са присуством малих и разбацаних шупљина. Зрење траје од 30 дана до 4 месеца. У асортиману и технологији ових сирева направљен је највећи напредак у индустрији сира. Израђује се низ варијетета или сличних сирева траписту, гауди и едамеру.

Иако се међусобно разликују сви полутврди и тврди сиреви имају заједничку технолошку основу која се базира на следећим операцијама:

1. Стандардизација млека.
2. Пастеризација млека на 65 °C / 30 минута.
3. Додавање – Стартер културе, CaCl₂, сирила уз мешање.
4. Коагулација млека око 30 до 40 минута.
5. Сечење груша на величину зрна кукуруза око 1 cm² код производње полутврдох сирева, односно на величину зрна пиринча код производње тврдох сирева.
6. Отпуштање сурутке и сушење зрна (загревање након отпуштања око 50% сурутке).
7. Обликовање груша стављањем у калупе.
8. Пресовање – сир добија финалан облик и влагу.
9. Сољење у саламури.
10. Зрење током којег се формира коначан укус и текстура сира.



Слика 64. Зрење сира (фото: аутор)

22.4.3. Производња ролованог сира

Роловани сир спада у групу сирева пареног теста (*pasta filata*), а израђује се у кућној радиности у Војводини од краја 70-тих година прошлог века. За овај сир може се рећи да је аутохтони сир Војводине, јер је веома познат у овом крају и производи се на многим пољопривредним газдинствима, малим радионицама сира и мини млекарама.

Производња ролованог сира одвија се у две фазе, у првој се производи баскија, а затим се парењем произведене баскије добија сирна маса која се развучи и затим ролује. Пре роловања на развучено сирно тесто могу се додати различити зачини или додаци (слатки и слани).



Слика 65. и 66. Развучено сирно тесто пре роловања (фото: аутор)

23. ЗАДАЦИ

1. Наведи особине којим је дефинисан квалитет млека

- _____
- _____
- _____
- _____

2. Попунити табелу у складу са Правилником о квалитету сировог млека (106/2017)

Параметри квалитета	Врста млека		
	кравље	овчије	козије
Млечна маст (%)			
Протеин (%)			
Сува материја без масти (%)			
Киселост (°SH)			
Тачка мржњења			
Алкохолна проба			

3. Наведи критеријуме за разврставање сировог млека на класе према Правилнику о квалитету сировог млека (106/2017)

Параметри квалитета	Врста млека		
	кравље	овчије	козије
I класа CFU/ml			
II класа CFU/ml			
III класа CFU/ml			
Соматске ћелије/ml све класе			

4. Под појмом „млеко“ подразумева се млеко које врсте животиња?

5. Објасни значење следећих термина, датих у Правилнику о квалитету сировог млека (106/2017)

Редовна мужа _____

Непрекидна мужа _____

Потпуна мужа _____

Мужа здравих музних грла _____

Правилно храњених музних грла _____

Најкасније 30 дана пре партуса и најраније осам дана после партуса _____

Без додавања или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека _____

6. Узорци сировог млека могу се узимати за вршење којих анализа?

- _____
- _____
- _____
- _____

7. Навести каква мора бити опрема за узорковање млека за микробиолошка испитивања.

8. Навести потребан прибор за узорковање сировог млека:

- _____
- _____
- _____

9. Колико често се узоркује млеко у оквиру редовне контроле млечности крава?

10. Колико често се узоркује млеко за оцену квалитета сировог млека, према Правилнику о квалитету сировог млека?

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

11. Да ли се узорци сировог млека могу конзервисати?

12. Да ли су потребни посебни услови складиштења и транспорта узорака сировог млека?

13. Наведи разлоге због којих узорак може бити неодговарајући:

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

14. Где се могу узимати узорци млечних производа?

15. Који је просечан садржај суве материје у крављем млеку?

16. Која је референтна метода за одређивање садржаја суве материје у млеку?

17. Како се израчунава садржај суве материје без масти (СМБМ)?

18. Која је референтна, а која рутинска метода за одређивање садржаја млечне масти?

19. Који се фактор користи да би се добио садржај протеина, на основу одређеног садржаја азота у млеку?

20. Навести просечан садржај лактозе у млеку.

21. За одређивање степена киселости млека по *Soxhlet-Henkel*-у потребни су следећи реагенси:

- _____
- _____

22. Који алкохол користимо за брзо одређивање киселости млека?

23. Криоскопом се одређује

24. Према Правилнику о квалитету сировог млека млеко не сме да има тачку мржњења вишу од _____

25. Који састојак млека утиче на осмотски притисак млека?

26. Запреминска маса млека се одређује

27. Садржај пепела у млеку креће се у границама

28. Навести предности одређивања броја бактерија инструменталним методама

29. Правилником о квалитету сировог млека дозвољено је да млеко I класе садржи до _____ CFU у 1 ml.

30. Да ли се узорци за микробиолошка испитивања могу конзервисати?

31. Правилником о квалитету сировог млека дозвољено је да стадно млеко садржи до _____ соматских ћелија у 1 ml.

32. Одређивање броја соматских ћелија у млеку нам служи за дијагностику

33. Које се инхибиторне материје могу наћи у млеку?

34. Навести основне врсте фалсификовања млека:

- _____
- _____
- _____
- _____

35. Који ензими се користе за контролу пастеризације млека?

ЛИТЕРАТУРА

Carlsson, A., Bjorck, L. (1987): The Effect of Some Indigenous Antibacterial Factors in Milk on the growth of *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. *Milkwissenschaft*, 27, 282-285.

ICAR (2020): The global standard for livestock data - Section 12 – guidelines for Milk Analysis

ISO 1211:2010 / IDF 1:2010 Milk — Determination of fat content — gravimetric method (Reference method)

ISO 1736:2008 Dried milk and dried milk products — Determination of fat content — gravimetric method (Reference method)

ISO 26462:2010 / IDF 214:2010 Milk — Determination of lactose content — Enzymatic method using difference in pH

ISO 8070:2007 Milk and milk products — Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents — Atomic absorption spectrometric method

ISO 6731:2010 / IDF 21 Milk, cream and evaporated milk — Determination of total solids content (Reference method)

Mc Grane, P., Rowe, M.T., Anger, S. (1996): Evaluation of Delvotest SP and Charm AIM-96 for Detection of a Range of Antibiotics in Milk. *Milkwissenschaft*, 6, 330-332.

MILK ED <https://milk-ed.eu/>

SRPS EN ISO 707:2010 / IDF 50 Млеко и производи од млека — Упутство за узимање узорака (Идентичан са ISO 707:2008)

SRPS EN ISO 11816-1:2015 / IDF 155 Млеко и производи од млека — Одређивање активности алкалне фосфатазе — Део 1: Флуориметријска метода за млеко и млечне напитке

SRPS EN ISO 13366-2:2008 Одређивање броја соматских ћелија- Део 2: Смернице за рад флуоро-оптоелектронских бројача

SRPS EN ISO 16297:2020 Млеко - Број бактерија - Протокол за процену алтернативних метода

SRPS EN ISO 21187:2008 Квантитативно одређивање бактериолошког квалитета - Упутство за успостављање и верификовање односа конверзије између резултата рутинске методе и резултата основне методе

SRPS EN ISO 4833-1:2014 Микробиологија ланца хране – Хоризонтална метода за одређивање броја микроорганизама – Бројање колонија на 30 °C техником наливања плоче

SRPS EN ISO 5764:2009 Млеко - Одређивање тачке мржњења – Термисторско-криоскопска метода (Референтна метода)

SRPS EN ISO 7218-1:2008 Микробиологија хране и хране за животиње – Општи захтеви и упутство за микробиолошка испитивања

SRPS EN ISO 8968-1:2016 Млеко и производи од млека – Одређивање садржаја азота - Део 1: Метода по Кјелдалу (Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation (ISO 8968-1:2014))

SRPS EN ISO 8968-3:2008 Млеко и производи од млека - Одређивање садржаја азота - Део 3: Метода блок - разарања (Семи-микро брза рутинска метода) (Milk - Determination of nitrogen content - Part 3: Block-digestion method (Semi-micro rapid routine method) (ISO 8968-3:2004))

SRPS EN ISO 8968-4:2016 Млеко и производи од млека – Одређивање садржаја азота - Део 4: Одређивање садржаја протеинског и непротеинског азота и израчунавање стварног садржаја протеина (референтна метода)

SRPS EN ISO 9622:2020/ IDF 141 Млеко и млечни производи у течном стању - Смернице за примену средње инфрацрвене области спектрометрије

SRPS ISO 16140-2:2016 Микробиологија ланца хране – Валидација методе – Део 2: Протокол за валидацију алтернативних (заштићених) метода у односу на референтну методу

SRPS ISO 19662:2020 Млеко – Одређивање садржаја масти – Ацидобутирометријска метода (метода по Герберу)

SRPS ISO 22662:2013 Млеко и производи од млека — Одређивање садржаја лактозе течном хроматографијом високе перформансе (референтна метода)

SRPS ISO 5538:2013 Млеко и производи од млека – Узимање узорака – Контролисање по атибутима (Идентичан са ISO 5538:2004)

SRPS ISO 8196:2020 / IDF 128 (сви делови) – Млеко и процена укупне тачности алтернативне методе анализе млека.

Suhren, G., Heeschen, W. (1993): Detection of Tetracyclines in Milk by *Bacillus cereus* Microtitre Test with Indicator. *Milkwissenschaft*, 48, 259-263.

Вујичић, И.Ф. (1982): Одређивање суве материје на основу садржаја масти и протеина у млеку. *Мљекарство* 32 (9) 262-267.

Главни одгајивачки програм за холштајн – фризијску расу говеда у АП Војводини (2019) Департман за сточарство, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.

Ђорђевић, Ј. (1982): Млеко (хемија и физика млека). ПКБ – Агроекономик, Београд.

Закон о безбедности хране (2019): Сл. гласник РС, 41/2009 и 17/2019.

- Закона о сточарству (2016): Сл. гласник РС, 41/2009, 93/2012 и 14/2016.
- Катић, В. (2007): Практикум из хигијене млека. Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду.
- Катић, В., Зебић, Г. (2020): Водич за узимање узорака сировог млека. РС Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде, Дирекција за националне референтне лабораторије.
- Кучевић Д, Тривуновић С. (2012): Систем контроле млечности посредством овлашћене лабораторије, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.
- Кучевић, Д. (2015): Технологија говедарске производње, практикум. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.
- Миљковић, В., Катић, В. (1985): Приручник лабораторијских анализа млека и производа од млека. Ветеринарски факултет, Универзитет у Београду.
- Остојић, М., Релић, Р., Жеж, Г. (2008): Млекарски практикум за производњу и познавање млека. Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду.
- Пејић, О., Ђорђевић, Ј. (1963): Млекарски практикум. Научна књига, Београд.
- Петричић, А. (1984): Конзумно и ферментирано млијеко. Удружење млекарских радника СРХ, Загреб, редакција часописа „Млекарство“.
- Поповић – Врањеш, А., Тривуновић, С., Бобош, С., Пејановић, Р., Влаховић, Б., Јајић, И., Пихлер, И. (2014): Производња, прерада и пласман млека и аутохтоних млечних производа у АП Војводини. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.
- Правилник о ветеринарско - санитарним условима, односно општим и посебним условима за хигијену хране животињског порекла, као и о условима хигијене хране животињског порекла (2014) Сл. гласник РС, 25/11. и 27/2014.
- Правилник о квалитету сировог млека, Сл. Лист РС 106/2017.
- Правилник о методама узимања узорака и методама физичких анализа млека и производа од млека. Сл. Лист СФРЈ 32/1983.
- Радуловић, З., Петрушић, Н. (2011): Микробиолошке методе анализе хране. Пољопривредни факултета, Београд.
- Стојановић, Ј., Катић, В. (1998): Хигијена млека. Научна књига Комерц, Београд.
- Царић, М., Милановић, С., Вуцеља, Д. (2000): Стандардне методе анализе млека и млечних производа. Прометеј, Нови Сад.
- Чобић, Т., Анто, Г. (1996): Говедарство (производња млека), Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет Нови Сад.
- Шкрињар, М. (2001): Микробиолошка контрола животних намирница. Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду.

СКРАЋЕНИЦЕ

DNK - дезоксирибонуклеинска киселина

ICAR - International Committee for Animal Recording

IDF - International Dairy

ISO – International organization for Standardization

IBC – Individual Bacterial Count

CFU – Coloni Forming Units

бр. - број

год. - година

др. - друго

ЕУ - Европска унија

итд. - и тако даље

мин. - минут

нпр. - на пример

п.н.е. - пре нове ере

р.бр. - редни број

реф. - референтан

сл. - слично

тзв. - такозвани

тј. - то јест

MRL - Maximum Residual Level

О аутору

Др Ксенија Чобановић је доцент на Департману за сточарство, Пољопривредног факултета у Новом Саду. Рођена је 22.10.1971. год. у Новом Саду. Дипломирала је 1995. на Пољопривредном факултету у Новом Саду. Од 1997 до 2012. радила је у Новосадској млекарни (технолог, а затим Руководилац контроле квалитета). Током рада у млекарни завршила је курсеве из области производње и прераде млека и млечних производа у организацији Tetra Pak-а и амбасаде САД-а, као и курс за НАССР консултанта. Боравила у Француској у оквиру Темпус програма. 2005. године, завршила је специјалистичке студије из микробиологије хране на Технолошком факултету, у Новом Саду, 2008. магистрала на Пољопривредном факултету у Новом Саду. Од 2013. године ради у Лабораторији за испитивање квалитета млека, Пољопривредног факултета у Новом Саду, као Руководилац испитивања. У току 2014. у Израелу завршава курс за унапређење млечности преживара. 2016. одбранила је докторску дисертацију, а 2018. године изабрана је у звање доцента за ужу научну област Сточарство. Од тада држи наставу на предмету Млекарство и Технологија прераде млека на основним студијама смера Анимална производња. На мастер студијама предметни је наставник на предметима Технологија прераде млека и производња млечних производа и Процесна техника и основе пројектовања у млекарству, а на докторским студијама на предметима Микробиологија и хигијена млека и Нове технологије у производњи млека и млечних производа. Од 2019. године је шеф Лабораторије за испитивање квалитета млека, Пољопривредног факултета у Новом Саду. АТСГ је ангажовао као техничког експерта. Аутор је или коаутор око 50 објављених научних и стручних радова. Учествовала је у реализацији националних и међународних пројеката.

Извод из рецензије

„.....Помоћни уџбеник на систематичан и разумљив начин приказује градиво из предмета Производња млека и млечних производа односно Млекарства (по акредитацији од 2019) и пружа студентима заокружен наставни материјал, олакшавајући им тако савладавање градива. Задаци, који представљају саставни део овог практикума, су конципирани тако да подстичу активно учешће студената у настави.....“

.....позитивно оцењујем овај рукопис и предлажем Наставно – научном већу Пољопривредног факултета у Новом Саду за издавање као Помоћни уџбеник.

Нови Сад, 16.01.2023.

Рецензент

Др Марија Пајић, ванредни професор
Пољопривредни факултет, Универзитета у Новом Саду

„.....Рукопис практикума „Млекарство“, написан је прецизним и јасним стилем, са добром прегледношћу и прихватљивошћу текста и са довољно табеларних и графичких приказа који су јасни и лако доступни свима који изучавају или мисле изучавати ову стручну и практичну област анималне (сточарске) производње. Рукопис је методолошки тако конципиран да је доступан ширем кругу корисника, на првом месту студентима пољопривредних, али и других факултета који у наставним плановима садрже сличне предмете или наставне целине (факултет ветеринарске медицине, више и високе пољопривредне школе).....“

Стога, овај рукопис позитивно оцењујем и са задовољством предлажем Наставно – научном већу Пољопривредног факултета у Новом Саду, да буде штампан и издат као помоћни уџбеник.

Нови Сад, 26.12.2022.

Рецензент

Др Денис Кучевић, редовни професор
Пољопривредни факултет, Универзитета у Новом Саду