

Stručni rad - Professional paper

UDK: 637.1

# Određivanje točke ledišta mlijeka infracrvenom spektrometrijom i termistor krioskopskom metodom

Nataša Pinti<sup>1</sup>\* Pukec<sup>1</sup>\*, Franjo Poljak<sup>1</sup>, Ana Dakić<sup>1</sup>,  
Danijela Stručić<sup>1</sup>, Davorka Blažek<sup>1</sup>, Vinko Pinti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatska poljoprivredna agencija, Ilica 101, Zagreb  
<sup>2</sup>Visoko gospodarsko učilište, Milislava Demerca 1, Križevci

Prispjelo - Received: 14.03.2009.  
Prihvaćeno - Accepted: 09.07.2009.

## Sažetak

Provedeno je određivanje točke ledišta kravljeg mlijeka dvjema metodama, u istim uzorcima mlijeka. Svrha istraživanja bila je istražiti mogućnost primjene metode infracrvene spektrometrije uspoređujući vrijednosti točke ledišta mlijeka na instrumentu MilkoScan FT 6000 s vrijednostima utvrđenim referentnom, termistor krioskopskom metodom na instrumentu Cryoscope 4C3. Tijekom četiri mjeseca analizirano je ukupno 320 uzoraka mlijeka. Jednom tjedno uzimani su uzorci mlijeka na sabiralištima mlijeka od 20-ak proizvođača. Točka ledišta određivana je objema metodama u triplicatu. Istraživanjem su utvrđene više vrijednosti točke ledišta mlijeka dobivene referentnom, u usporedbi s metodom infracrvene spektrometrije. Utvrđena je prosječna razlika odstupanja rezultata analiza dobivenih infracrvenom spektrometrijom i referentnom metodom, od 1,31 do 5,28 m°C. U prosjeku razlika je iznosila 3,145 m°C. Razlike između izračunatih srednjih vrijednosti ponovljivosti ( $s_r$ ) referentne metode (0,194 %) i metode infracrvene spektrometrije (0,193 %) bile su zanemarive. Između srednjih vrijednosti dobivenih rezultata analiza različitim istraživanim metodama nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ;  $P > 0,01$ ), a dobiveni rezultati istraživanja upućuju na zaključak da se metoda infracrvene spektrometrije može koristiti u svrhu utvrđivanja patvorenja mlijeka kao metoda odabira (screening metoda). Na temelju dobivenih rezultata istraživanja predlaže se primjena metode infracrvene spektrometrije u određivanju točke ledišta jer je brža i može se provesti postojećom opremom koja služi za određivanje i drugih parametara kvalitete mlijeka, npr. na instrumentu MilkoScan FT 6000.

*Ključne riječi:* mlijeko, točka ledišta, infracrvena spektrometrija,  
termistor krioskopska metoda

## Uvod

Praktična primjena određivanja točke ledišta mlijeka dokazivanje je dodane vode, odnosno patvorenja mlijeka i jedna je od važnijih mjera utvrđivanja kvalitete mlijeka. Prema navodima autora Golc i Penca (1987.), Golc Teger i sur. (2005.), Janštová i sur. (2007.), točka ledišta mlijeka ovisi o godišnjem dobu, stadiju laktacije, pasmini, vremenu mužnje, hranidbi životinja, a posebno o dodanoj, odnosno stranoj vodi u mlijeko. Podaci o točki ledišta mlijeka predstavljaju

jedan od ključnih parametara koji služi prilikom ocjene kvalitete mlijeka. Prema Pravilniku o kakvoći svježega sirovog mlijeka (N N 102/00), mlijeko uz ostale zahtjeve kvalitete mora udovoljavati i da točka ledišta ne smije biti viša od -517 m°C. Prema europskoj direktivi (European Community, 1992., Council Directive 92/46 EEC), točka ledišta kravljeg mlijeka ne smije biti viša od -520 m°C. Kuczaj (2001.) navodi da dopuštena vrijednost točke ledišta mlijeka u Poljskoj ne smije biti viša od -512 m°C.

\*Dopisni autor/Corresponding author: Tel./Phone: +385 49 279 050; E-mail: [npintic@hssc.hr](mailto:npintic@hssc.hr)

Golc Teger i sur. (2005.) u svom istraživanju navode vrijednosti točke ledišta mlijeka u Sloveniji od -562 do -423 m°C, u prosjeku -527 m°C. U Republici Češkoj, Navrátilová i sur. (2006.) iznose da točka ledišta predstavlja jedan od čimbenika kvalitete svježega sirovog mlijeka i kao donju granicu toplinski obrađenog mlijeka navode vrijednost od -520 m°C.

Cilj istraživanja bio je utvrditi mogućnost primjene metode infracrvene spektrometrije u određivanju točke ledišta mlijeka na osnovi usporedbe rezultata s referentnom, termistor krioskopskom metodom. Naime, referentna termistor krioskopska metoda zahtijeva dulji vremenski period za određivanje točke ledišta u odnosu na metodu infracrvene spektrometrije. Zbog toga postoji sve veća potreba za bržim ali dovoljno preciznim metodama određivanja točke ledišta, a posebno za onim koje se mogu provesti postojećom opremom koja služi za određivanje i drugih parametara kvalitete mlijeka.

### Materijal i metode rada

Istraživanje je provedeno kroz razdoblje od prvog do četvrtog mjeseca 2008. godine. Uzorkovalo se na sabiralištima mlijeka, jednom tjedno od 20 proizvođača. Točka ledišta mlijeka određena je referentnom, termistor krioskopskom metodom na instrumentu Cryoscope 4C3, proizvođača Advanced instruments, prema HRN EN ISO 5764 i standardnom metodom infracrvene spektrometrije na instrumentu MilkoScan FT 6000, proizvođača Foss, prema HRN ISO 9622. Referentna, termistor krioskopska metoda označena je oznakom KR, a metoda infracrvene spektrometrije oznakom IR.

Točka ledišta mlijeka određivana je objema metodama u triplicatu. Ukupno je analizirano 320 uzoraka mlijeka. Podaci istraživanja obrađeni su pomoću statističkog programa Statgraphics Centurion XV (2006). Programom su utvrđena osnovna statistička obilježja: aritmetička srednja vrijednost ( $\bar{x}$ ), standardna devijacija ( $s$ ), standardna greška ( $s_x$ ), koeficijent varijacije ( $C$ ). Istim programom provedeno je i ispitivanje značajnosti razlika između dviju istraživanih metoda, analizom varijance (ANOVA). Daljnja testiranja opravdanosti razlika između aritmetičkih sredina vrijednosti svih mjeseci obrađena su metodom najmanje značajnih razlika (LSD) po Fisheru. Izračunate vrijednosti ponovljivosti referentne metode i metode

infracrvene spektrometrije označene su sa  $s_r$  i relativne sa  $s_r\%$ .

### Rezultati istraživanja i rasprava

Istraživanjem su utvrđene više vrijednosti točke ledišta dobivene referentnom, u usporedbi s metodom infracrvene spektrometrije (tablica 1, grafikon 1). U tablici 1 prikazana su u svakom mjesecu ispitivanja srednje vrijednosti točke ledišta za svako sabirno mjesto. Dobivene vrijednosti točke ledišta ispitivanih uzoraka mlijeka kretale su se od maksimalno -397,00 m°C za referentnu, odnosno -397,13 m°C za metodu infracrvene spektrometrije do minimalnih vrijednosti od -561,67 m°C za referentnu i -561,32 m°C za metodu infracrvene spektrometrije (tablica 1), a nešto niže su od dobivenih vrijednosti točke ledišta mlijeka u istraživanju Golc Teger i sur. (2005.), koji navode raspon od -562 do -423 m°C. Uočena je i u tablici 1 vidljiva podjednaka, mala varijabilnost točke ledišta mlijeka za obje istraživane metode ispitivanja, od 2,33 do 4,79 za referentnu i od 2,37 do 4,68 za infracrvenu spektrometriju.

Utvrđena je prosječna razlika odstupanja rezultata analiza dobivenih infracrvenom spektrometrijom i referentnom metodom, od 1,31 do 5,28 m°C (tablica 2). U prosjeku razlika je iznosila 3,145 m°C.

Uspoređujući prosječne rezultate analiza mjesečnih ispitivanja uzoraka mlijeka određene metodom infracrvene spektrometrije sa zahtjevima Pravilnika o kakvoći svježega sirovog mlijeka (NN, 102/00) u pogledu dopuštenih vrijednosti točke ledišta, može se utvrditi da dobiveni rezultati zadovoljavaju zahtjeve navedenog pravilnika. Prosječni rezultati analiza, kontrole u 3. mjesecu, referentnom metodom viši su 3,22 m°C od zahtjeva Pravilnika o kakvoći svježega sirovog mlijeka, a u ostalim mjesecima zadovoljavaju postavljene zahtjeve Pravilnika kod obje istraživane metode (tablica 1). Dobiveni su rezultati gotovo iste prosječne ponovljivosti za obje istraživane metode,  $s_r\%=0,194$  za referentnu metodu i  $s_r\%=0,193\%$  za metodu infracrvene spektrometrije (tablica 3). Slične rezultate ponovljivosti za iste metode navode Van Crombrugge (2003.) u radu točka ledišta, primjena infracrvene spektroskopije u analizi mlijeka i mliječnih proizvoda, te Sanchez i sur. (2007.) u ispitivanju točke ledišta kozjeg mlijeka. Provedenom analizom varijance nije utvrđena statistički značajna razlika  $P>0,05$ ;  $P>0,01$  između utvrđenih prosječnih vrijednosti analiza dobivenih dvjema istraživanim metodama (tablica 3).

Tablica 1: Srednje vrijednosti točke ledišta i osnovna statistička obilježja  
 Table 1: Average values of milk freezing point values and statistical marks

Vrijednosti točke ledišta (m°C) i statistička obilježja Milk freezing point values (m°C) and statistical marks	Metoda ispitivanja/Method of analysis							
	KR (n=320)				IR (n=320)			
	Mjeseci ispitivanja/Investigated months							
	1. (n=80)	2. (n=80)	3. (n=80)	4. (n=80)	1. (n=80)	2. (n=80)	3. (n=80)	4. (n=80)
	-521,73	-517,05	-521,42	-520,12	-525,37	-522,03	-524,36	-523,44
	-516,70	-522,07	-515,45	-511,40	-519,19	-524,76	-520,56	-512,75
	-521,27	-521,95	-506,70	-521,49	-523,33	-524,63	-510,58	-522,05
	-524,40	-508,40	-511,56	-520,26	-526,32	-511,94	-520,72	-520,27
$\bar{x}$	-521,03 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	-517,37 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>	-513,78 <sup>bc</sup> <sub>A</sub>	-518,32 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>	-523,55 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	-520,84 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>	-519,06 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>	-519,63 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>
s	12,15	18,24	24,64	22,43	12,39	17,87	24,31	22,73
$s_{\bar{x}}$	1,36	2,04	2,75	2,51	1,39	2,00	2,72	2,54
C	2,33	3,52	4,79	4,34	2,37	3,43	4,68	4,39
min.	-545,00	-536,67	-555,91	-561,67	-561,32	-540,22	-551,12	-559,05
max.	-468,33	-421,00	-397,00	-400,00	-474,15	-425,57	-398,40	-397,13

a, b... P<0,05 - Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima se značajno razlikuju/ a, b... P<0,05 - Values within the same row with different letter differ significantly  
 A, B... P<0,01 - Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju/ A, B... - P<0,01 Values within the same row with different letter differ significantly

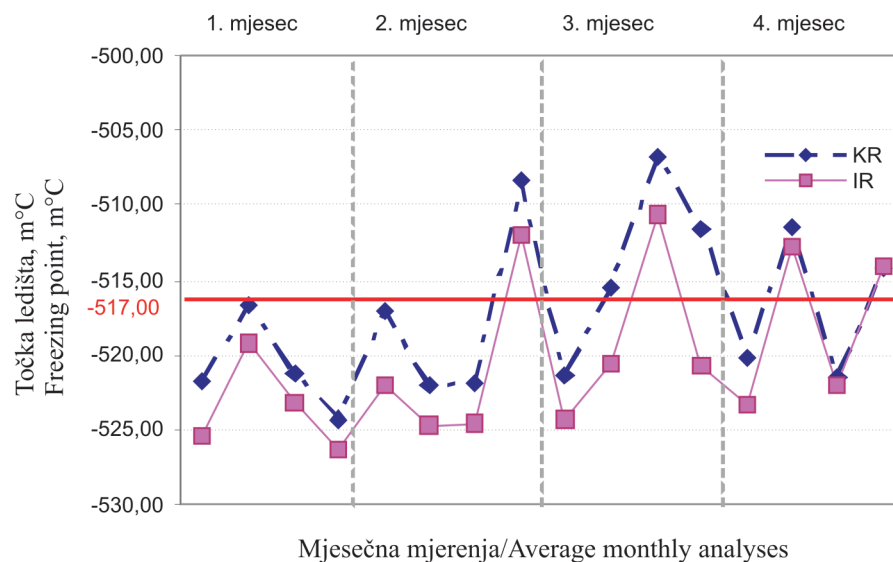
Tablica 2: Razlike između utvrđenih vrijednosti točke ledišta mlijeka dviju metoda ispitivanja  
 Table 2: Differences between determined milk freezing point values of two investigated methods

Metoda/Method	IR-KR			
Mjesec/Month	1.	2.	3.	4.
Razlika (m°C)/Difference (m°C)	2,52	3,47	5,28	1,31

Tablica 3: Srednje vrijednosti točke ledišta mlijeka i ponovljivosti ( $s_r$  i  $s_r\%$ )  
 Table 3: Average value of milk freezing point and repeatability values ( $s_r$  and  $s_r\%$ )

Metoda ispitivanja Method of analysis	Statistička obilježja/Statistical marks		
	$\bar{x}_{(1-4)}$	$s_{r(1-4)}$	$s_r\%_{(1-4)}$
KR (n=320)	-517,63 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	19,364	0,194
IR (n=320)	-520,77 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	19,325	0,193

a, b... P<0,05 - Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima se značajno razlikuju/a, b... P<0,05 - Values within the same row with different letter differ significantly  
 A, B... P<0,01 - Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju/ A, B... P<0,01 - Values within the same row with different letter differ significantly



Grafikon 1: Točka ledišta mlijeka  
Fig. 1: Milk freezing point

### Zaključci

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti da su prosječni rezultati analiza točke ledišta mlijeka utvrđeni metodom infracrvene spektrometrije u prosjeku viši 3,145 m°C u usporedbi s referentnom metodom. Prosječni rezultati ponovljivosti za obje istraživane metode neznatno se razlikuju,  $s_r\% = 0,194$  za referentnu metodu i  $s_r\% = 0,193$  za metodu infracrvene spektrometrije. Između utvrđenih prosječnih vrijednosti analiza dobivenih dvjema istraživanim metodama nije utvrđena statistički značajna razlika  $P > 0,05$ ;  $P > 0,01$ . Rezultati upućuju na zaključak da se metoda infracrvene spektrometrije može koristiti u svrhu utvrđivanja točke ledišta kravljeg mlijeka, odnosno patvorenja mlijeka kao metoda odabira (screening metoda). Primjenom metode infracrvene spektrometrije značajno bi se povećao broj analiziranih uzoraka mlijeka u istom vremenskom razdoblju u određivanju točke ledišta mlijeka, u usporedbi s referentnom, termistor krioskopskom metodom.

### *Milk freezing point determination with infrared spectroscopy and thermistor cryoscopy method*

#### Summary

Two analytical methods were used for determination of the freezing point on identical test raw milk samples. The aim of this research was to investigate possibility of usage infrared spectrometry method, with MilcoScan FT 6000 milk analyzer for determination of milk freezing point, comparing to results obtained by using a reference thermistor cryoscopy method with Cryoscope 4C3 analyzer. During period of four months, total of 320 milk samples were analyzed. Once a week milk samples were sampled at collection reservoirs from twenty milk producers. Milk freezing point was analyzed with each of investigated methods in three consecutive testing respectively repetition. The results of freezing point were recorded as higher by reference in comparison to infrared spectroscopy method. Mean difference from 1.31 to 5.28 m°C respectively 3.43 m°C was determined between results obtained with infrared spectroscopy and reference method. Mean repeatability results for both investigated methods showed slight difference,  $s_r\% = 0.194$  for the reference method and  $s_r\% = 0.193$  for the infrared spectrometry method. Statistically significant difference between

the means of the obtained results with two different investigated methods ( $P > 0.05$ ;  $P > 0,01$ ) was not determined. The results indicate the conclusion that infrared spectroscopy method can be used for detecting adulteration of milk with water addition as screening method. Based upon the obtained results usage of infrared spectrometry method in determination of raw milk freezing point is recommended because it is faster and can be carried out with current analyzers used for determination of other milk quality parameters, for example analyzer MilkoScan FT 6000.

*Key words:* milk, freezing point, infrared spectrometry method, thermistor cryoscopy method

#### Literatura

1. European Community (1992): Council Directive 92/46/EEC of June 1992. Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk based products. *Official Journal of the European Communities* 268, 1-32.
2. Golc, S., Penca, V. (1987): Krioskopska točka mleka v povezavi z drugimi lastnostmi mleka. *Acta agriculturae Slovenica* 11, 333-343.
3. Golc Teger, S., Lavrenčič, A., Grahelj, A. (2005): Točka leđišta mlijeka visoko proizvodnih mliječnih krava. *Mljekarstvo* 55 (2), 125-138.
4. HRN EN ISO 5764 (2003): Mlijeko - Određivanje točke smržavanja - Termistorsko krioskopska metoda (FIL-IDF Standard no.108:2002/ISO 5764), Hrvatski zavod za norme.
5. HRN ISO 9622 (2001): Punomasno mlijeko - Određivanje udjela mliječne masti, bjelančevina i laktoze - Upute za rad MID-infrared instrumentima (ISO 9622:1999), Hrvatski zavod za norme.
6. Janštová, B., Dračková, M., Navrátilová, P., Hadra, L., Vorlová, L. (2007): Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech Journal of Animal Science* 52 (11), 394-398.
7. Kuczaj, M. (2001): Interrelations between year season and raw milk hygienic quality indices. *Electronic journal of polish agricultural universities* 4 (1), #01, <http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue1/animal/abs-01.html>.
8. Narodne novine (2000.): Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. 102/2000.
9. Navrátilová, P., Janštová, B., Glossová, P., Vorlová, L. (2006): Freezing point of heat-treated drinking milk in the Czech republic. *Czech Journal of Food Sciences* 24 (4), 156-163.
10. Sanchez, A., Sierra, D., Luengo, C., Corrales, J. C., De La Fe, C., Morales, C. T., Contreras, A., Gonzalo, C. (2007): Evaluation of the MilkoScan FT 6000 milk analyzes for determining the freezing point of goat's milk under different analytical conditions. *Journal of Dairy Science* 90, 3153-3161.
11. Statistički program - Statgraphics Centurion XV (2006): STSC Inc. Version 15.1.02., Statisticalgraphics system by Statistical Graphics Corporation.
12. Van Crombrugge, J. M. (2003): Freezing point: New applications of mid-infra-red spectrometry for the analysis of milk and milk products. *Bulletin-International Dairy Federation* 383, 16-22.