

u svjetske skupine, bilo bi logično da naše mljekarstvo pristupi rješavanju problematike nomenklature i klasifikacije naših mlječnih proizvoda. Ispravan pristup takvom zadatku bio bi formiranje stalne jugoslavenske stručne komisije za registraciju i priznavanje stručne oznake jugoslavenskih mlječnih proizvoda. U ovu bi imali biti uključeni predstavnici ustanova za stručno obrazovanje i naučni rad, te istaknuti stručnjaci iz prakse iz svih Republika. Time bi se izbjeglo inače neizbježnu dezorijentaciju i zbrku koju sve više izaziva pojava proizvoda čiji su nazivi često puta plod laičke fantazije, usiljene originalnosti i prividne komercijalnosti.

Primjere i uzore za stručno rješavanje ovih pitanja može se naći u zemljama s najnaprednijim mljekarstvom u svijetu i u njihovim iskustvima koja su ih na to uputila.

#### L I T E R A T U R A

1. S a b a d o š D.: »Ocjenjivanje kvalitete i izložba mlječnih proizvoda za FNRRJ na XXV Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1957, br. 11.
2. Š a b e c S.: »Prva republička izložba i ocjenjivanje mlječnih proizvoda Slovenije«. Mljekarstvo, Zagreb, 1957, br. 11.
3. M a r k e š M.: »Mlječni proizvodi na XXVI Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1959, br. 6.
4. S a b a d o š D.: »Kvaliteta i asortiman mlječnih proizvoda na XXVII Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1960, br. 6.
5. M a r k e š M.: »Ocjenjivanje kvalitete mlječnih proizvoda na Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1962, br. 6.
6. V u j i č i ć I., I l i ć D.: »Kvalitet i asortiman mlečnih proizvoda na XXX Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1963, br. 5.
7. V u j i č i ć I.: »Osvrt na kvalitet i asortiman mlečnih proizvoda na XXXI Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1964, br. 5.
8. S a b a d o š D.: »Kvaliteta jugoslavenskih mlječnih proizvoda na XXXII Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu«. Mljekarstvo, Zagreb, 1965, br. 11-12.
9. S a b a d o š D.: »Kvaliteta i asortiman mlijeka i mlječnih proizvoda na XXXIII Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu godine 1966.«. Mljekarstvo, Zagreb, 1966, br. 5.

**Dipl. inž. Marija Sotlar, Ljubljana**

Zavod za mlekarstvo

Kmetijski institut Slovenije

## **ODREĐIVANJE KOLIČINE BJELANČEVINA U MLIJEKU PRIMJENOM AMIDOSCHWARZ METODE**

### U V O D

Bjelančevine mlijeka sve su važniji predmet naučnih istraživanja i diskusija. Zbog svoje visoke biološke i prehrambeno-fiziološke vrijednosti kao i zbog privrednog značaja u sve većoj mjeri privlače pažnju inostranih i domaćih stručnih institucija.

Osnova za naplaćivanje mlijeka u većini zemalja pa i kod nas još je uvijek količina mlijeka, % masti u njemu i njegov bakteriološki kvalitet. S obzirom na to, da su bjelančevine s biološkog stanovišta najvredniji sastavni dio mlijeka, nužno je promijeniti kriterije na osnovu kojih se vrši plaćanje

mlijeka, uzimajući u obzir i količinu bjelančevina, koje se u njemu nalaze. Pored pomenutog, podaci o količini bjelančevina u mlijeku potrebni su mljekarskim pogonima i za utvrđivanje proizvodnih kalkulacija i bilanca. Poznato je, da veća količina bjelančevina ne samo da daje veći randman, nego se mlijeko bogatije tom supstancom i lakše podsiruje, pa je to interesantno i s tog gledišta.

Proizvođači stoke za uzgoj kod nas, nisu još dovoljno obaviješteni o značaju bjelančevina mlijeka pa im predstavlja količina mlijeka i postotak masti u njemu osnovni cilj uzgoja stoke. U vezi sa selekcijskom službom potrebno je zbog toga prijeći na ispitivanje genetsko utvrđenih osobina, te izlučiti sve životinje preko kojih se prenosi niska sadržina bjelančevina.

U Zavodu za mlekarstvo Kmetijskega Instituta Slovenije baš zbog uloge bjelančevina mlijeka u prehrani, mlekarskoj industriji, a time i kod uzgoja i selekcije goveda, uključili smo u svoj rad proučavanja i uvođenje brze, serijske metode za utvrđivanje bjelančevina u mlijeku s pomoću kolorimetrijske metode Amidoschwarz.

## PROBLEM

God. 1944. Fraenkel, Conrat i Cooper razvili su kolorimetrijsku metodu za utvrđivanje bjelančevina, koju su u narednim godinama dopunili i usavršili Udy, Schober, Hoetzel (1956), Steinsholt (1957), Raadsveld (1960), Posthumus (1960), Förster (1964) i Probst (1964). Navedena metoda isprobana je paralelno s Kjeldahl postupkom, tako da je moguće s kolorimetrijskim postupkom u praksi postići korektnu analitičku rezultate.

Mnogi autori kao Shiga, Shimizu, Hamada (5), Dolby (11), Schober, Hetzel (18) i Solberg (28) označavaju metodu Amidoschwarz kao najupotrebljiviju za utvrđivanje bjelančevina, dok je po mišljenju Peltole i Mälkki-a (6) ta metoda jednakovrijedna s Orange G metodom.

U nizozemskom centralnom laboratoriju za izučavanje bjelančevina Zutphen, postupak Amidoschwarz počeli su primijenjivati već od god. 1958. dalje, dok su istu metodu usvojile i laboratorije Weihestephan u SR Njemačkoj, Rotholz u Austriji i u drugim evropskim zemljama te na Novom Zelandu.

Ova metoda omogućuje utvrđivanje bjelančevina ne samo u punom, već i u obranom mlijeku, zgusnutom mlijeku, u mlječnom prahu, nadalje u sirutki, kazeinu i u nekim sirevima.

Razni autori se međutim u svojim postupcima kod analiza razilaze kako u pogledu same koncentracije otopine Amidoschwarz 10 B, tako u pogledu primijenjenog pH, a i upotrebljavane valne dužine kod fotometričkog očitavanja.

Tako npr. Dolby (11) navodi, da ne treba potpuno tačno odrediti koncentraciju otopine boje, nego je dovoljno, da se nova količina Amidoschwarz otopine samo restandardizira. Nasuprot tome Probst (13) naglašava, da je za sam postupak od vanredne važnosti tačno određena koncentracija otopine, te tačno odmjeren pH.

Već iz naprijed pomenutog vidi se, da je prenošenje bilo koje metode, bez istraživanja u određenim uslovima, nemoguće. Potrebno je istražiti i utvrditi koja od brojnih modifikacija za naše, određene uslove najbolje odgovara, odnosno, da li treba za naše uslove rada i opreme izvršiti određene modifikacije.

## METODIKA RADA

Princip kolorimetrijskog postupka osnovan je na činjenici, da neke boje reagiraju s bjelančevinama mlijeka, što u kiselom mediju rezultira u obaranju kompleksa bjelančevina — boja. Zbog prevlađujuće ionizacije bazičkih bjelančevinskih grupa imaju molekule bjelančevina u otopini s pH nižim od izoelektričke tačke, pozitivan električki naboj. Kod dodatka kisele otopine boje, vežu se anioni boje s kationima bjelančevina, što prouzrokuje netopivi talog bjelančevina — boja i to u stehiometrijskom odnosu. Količina vezane boje proporcionalna je ukupnim bjelančevinama. Nakon otklanjanja taloga s pomoću centrifugiranja ili filtriranja, u tekućini nad talogom utvrdi se fotometrijskim putem optička gustoća — ekstinkcija, Raadsveld (2).

U upotrebi su različite boje kao Orange G, Neslerjev reagent i Amidoschwarz 10 B Merck, koja se u posljednje vrijeme najviše upotrebljava, zbog čega se i sam postupak naziva Amidoschwarz metodom.

U našem eksperimentalnom radu oslanjali smo se na izvođenja stranih autora i ispitivali njihove postupke u našim uslovima. Uspoređivali smo postupke po Raadsveldu (2), koji upotrebljava 0,04 % koncentraciju Amidoschwarz otopine, Försteru (16) koji radi sa 0,06% Amidoschwarz otopinom i koji je svoju metodu postavio na osnovu istraživanja Schober-a, Hetzel-a (18), Steinsholt-a (1) i Posthumusa (4). Pored navedene dvojice istraživača uključili smo u rad i postupak Probst-a (13), koji navodi 0,08 %-nu koncentraciju Amidoschwarza.

U danim uslovima rada i opreme iskazao se kao najbolji postupak Förster-Steinsholt, tako da smo uz neke modifikacije usvojili slijedeći tok rada za kolorimetrijsko utvrđivanje bjelančevina u miješanom, sirovom mlijeku, konzerviranom s 6,4 % sublimatom (0,6 ml  $\text{HgCl}_2$  na 100 ml mlijeka), Raadsveld (2).

**Priprema uzoraka mlijeka:** Ispitivali smo sirovo mlijeko. Uzorke uzimali smo na prijemnoj rampi Ljubljanske mljekare, a konzervirali ih sa sublimatom. Da bismo postigli različite koncentracije bjelančevina, razrijeđivali smo uzorke u granicama od 3,6 do 2,0 % bjelančevina. Razrijeđeni uzorak pripremili smo u odmjernoj tikvici tako, da smo utvrđenu količinu vode dopunili do oznake mlijekom. Razrijeđivanje vršili smo u paralelkama. Da bismo utvrdili tačnost kolorimetrijske metode, u istom uzorku određivali smo postotak bjelančevina i s mikro Kjeldahl metodom.

Priprema reagenta Amidoschwarz 10 B — Merck:

Amidoschwarz 10 B Merck	6,1650 g
Sek. natrijev fosfat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	39,8256 g
Limunska kiselina $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	160,1000 g

Dopunili smo do 10 litara destiliranom vodom. Reagent Amidoschwarz 10 B pripremi se u pufernoj otopini limunske kiseline i sekundarnog natrijevog fosfata. U tako otopljenom obliku boja se dodaje uzorku mlijeka. Od velike je važnosti poznata i tačno utvrđena koncentracija same boje i to, da je mlijeku dodana količina Amidoschwarz otopine u višku. Priprema reagenta zahtijeva tačnost u radu, jer već mala greška dovodi do promjene koncentracije otopine i time do promijenjenih rezultata fotometrijskih mjerenja.

## POSTUPAK

Konzervirani uzorak mlijeka zagrije se na temperaturu 20° C i dobro promiješa. Nakon toga odpipetira se 15 ml mlijeka u odmjernu tikvicu, zapremine 200 ml, te dopuni do oznake destiliranom vodom. Od ovako pripremljene probe odpipetira se 10 ml u specijalnu epruvetu, zapremine 50 ml i dodaje 20 ml 0,06 % Amidoschwarz otopine. Obadviije supstance u tikvici miješa se mehaničkim putem, kako bi stupile u međusobnu reakciju. Uzorak miješali smo u našem slučaju ručno. Pri tome smo ispitivali različito vrijeme mehaničkog miješanja: 1 min, 5, 10 i 20 minuta. Miješanje u vremenu od 1 minute nije bilo dovoljno, a pošto rezultati kod miješanja u vremenu od 5, 10 i 20 minuta međusobno nisu odstupali, upotrijebili smo u narednim izvođenjima vrijeme od 5 minuta.

Kompleks bjelančevina-boja ispada u obliku netopljivog taloga, koji se s pomoću centrifugiranja izluči te je jasno vidljiv na dnu epruvete. Centrifugirali smo 10 minuta kod 1.500 obrtaja na minutu. S obzirom na količinu bjelančevina u mlijeku, tekućina nad talogom obojena je tamnije ili svjetlije. Što je tekućina nad talogom svjetlija, to je više boje vezano za bjelančevine, veća je dakle i količina bjelančevina u mlijeku i obrnuto. U bistroj, različito plavo obojenoj tekućini mjeri se u daljnjem radu ekstinkcijska vrijednost nevezane boje. Za mjerenje ekstinkcije uzima se 5 ml tekućine, stavlja se u odmjernu tikvicu i razrijedi destiliranom vodom do 200 ml. Umjesto na u literaturi navedenoj valnoj dužini 578 m $\mu$ , mjerili smo vrijednost ekstinkcije nevezane boje kod 615 m $\mu$ . Valnu dužinu 578 m $\mu$  upotrebljavaju autori Steinsholt (1), Probst (13), Förster (16), a kod valne dužine 590 m $\mu$  mjeri Raadsveld (2).

Valnu dužinu 615 m $\mu$  izabrali smo, jer smo kod utvrđivanja korelacije između koncentracije Amidoschwarz otopine i svjetlosne apsorpcije kod različitih valnih dužina utvrdili, da je za koncentraciju 6,17 gama/ml Amidoschwarz otopine najveća svjetlosna apsorpcija kod pomenute valne dužine. (Slika 1. Dijagram)

Na promijenjenim valnim dužinama mjere i drugi autori kao Shiga (5) kod 610 m $\mu$ , Peltola, Mälkki (6) kod 607 m $\mu$  i najzad Steinsholt (1) kod valne dužine 612,5 m $\mu$ .

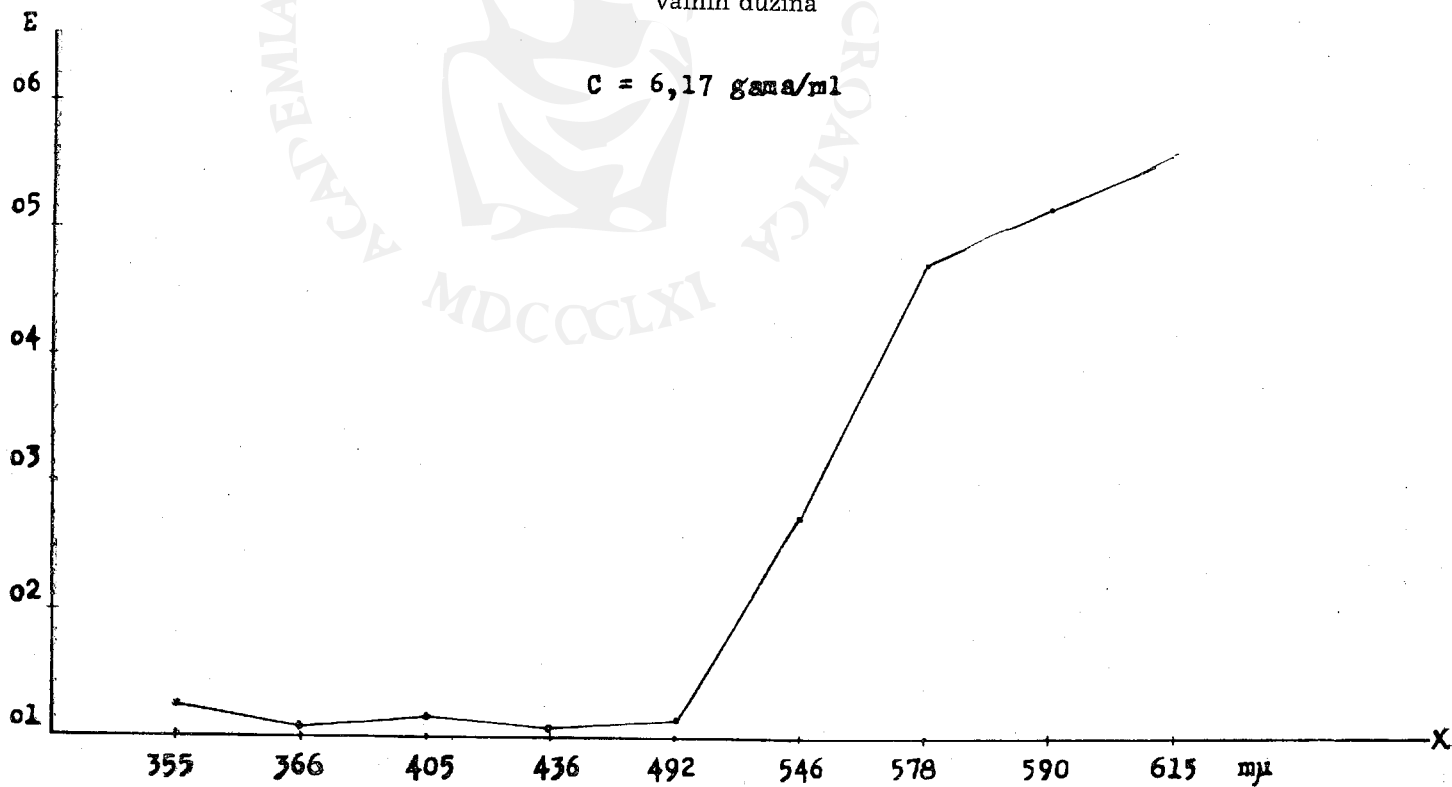
Paralelno ispitivali smo i postupak Amidoschwarz s nerazrijeđenim uzorcima mlijeka. 1 ml-u konzerviranog mlijeka dodali smo 20 ml 0,06 % Amidoschwarz otopine, mehanički miješali 5 minuta, centrifugirali 10 minuta kod 1.500 obrtaja/min, 5 ml bistre tekućine razrijedili smo s 55 ml destilirane vode i mjerili ekstinkciju kod 615 m $\mu$ . Rezultati bili su komparativni, no zbog nepotpune opreme odlučili smo se za dugotrajniji postupak s razrijeđivanjem mlijeka (lakše pipetiranje mlijeka i uzimanje tekućine nad talogom).

Drugi postupak brži je i olakšava rad, no uslov je potpuna i mehanizirana oprema u laboratoriju. Peltola i Mälkki (6) navode da su u laboratoriji Instituta Johioninen u Finskoj npr. dnevno izveli 50 analiza, u Institutu Weihenstephan izradili su do 300 analiza dnevno, dok je Institut Zutphen u Holandiji opremljen tako usavršenim aparaturama i mehaniziranim priborom, da su u mogućnosti s pomoću aparata, na optičko električkoj osnovi očitati 15.000 mjerenja i više na dan, kako to navodi Posthumus (1). Naša oprema omogućavala nam je najviše 25 mjerenja na dan.

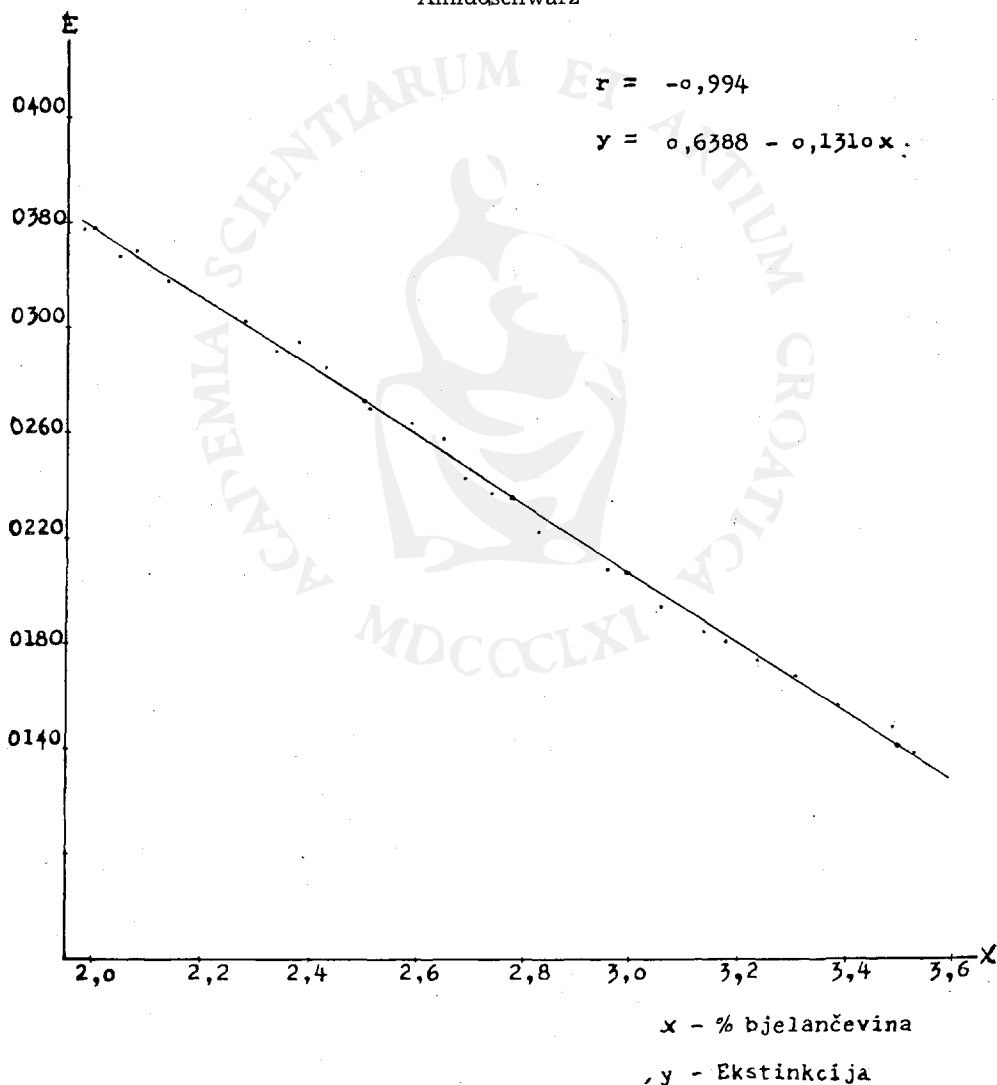
Dijagram

Slika 1

Korelacija između koncentracije otopine i svjetlosne apsorpcije kod različitih valnih dužina



Baždarna krivulja kolorimetrijskog postupka  
Amidoschwarz



Na osnovu eksperimentalnih rezultata bilo je potrebno pripremiti baždarnu krivulju i tabelu.

#### REZULTATI USPOREĐIVANJA AMIDOSCHWARZ METODE S KJELDAHLOM

Na osnovu baždarne krivulje i tabele potrebno je eksperimentalne podatke obraditi statističkom metodom regresije. Izračunali smo koeficijent regresije  $b$  i koeficijent korelacije  $r$ , te ispitali s pomoću analize varijance signifikantnost linearnosti.

Amidoschwarz metodu uspoređivali smo s mikro Kjeldahl metodom, u istom, konzerviranom uzorku mlijeka, u dve paralelne probe, a za izračunavanje regresije upotrijebljena je aritmetička sredina dobivenih vrijednosti.

Ekstinkcijske vrijednosti utvrđivali smo isto tako u dvije paralelne probe, sa četiri očitavanja, a srednje vrijednosti mjerenja poslužile su kao elementi izračunavanja regresije.

Baždarna krivulja oblikuje se na osnovu odnosa između apsolutnih vrijednosti bjelančevina (Kjeldahl) i s pomoću Amidoschwarz metode utvrđenim ekstinkcijskim vrijednostima iste otopine bjelančevina. U koordinatni sistem unosi se rezultate paralelnih istraživanja: Na abscisu  $x = \%$  bjelančevina, utvrđen s mikro Kjeldahl metodom, na ordinatu  $y =$  ekstinkcijske vrijednosti nevezane boje, utvrđene Amidoschwarz metodom. (Slika 2. Baždarna krivulja AMŠ postupka).

Na osnovu eksperimentalnih rezultata utvrdili smo linearni odnos — linearnu regresiju, koja je grafički prikazana pravcem. Granice pouzdanosti nagiba regresije kod  $P = 5 \%$  su u našem slučaju: —  $0,1310 \pm 0,002$ , a izračunata jednadžba regresije:

$$Y = 0,638833 - 0,131009 X$$

Jednadžbu preudesimo u oblik iz kojeg preračunamo postotak bjelančevina utvrđenih s pomoću Amidoschwarz metode:

$$P = \frac{0,6388 - E}{0,1310} \quad \begin{array}{l} P = \% \text{ bjelančevina} \\ E = \text{ekstinkcija} \end{array}$$

S pomoću regresijskog pravca osniva se baždarna tabela iz koje se očitava postotak bjelančevina za utvrđene vrijednosti ekstinkcije.

## DISKUSIJA O TAČNOSTI AMIDOSCHWARZ METODE

Podaci iz literature u vezi s tačnošću kolorimetrijske metode Amidoschwarz međusobno se razlikuju. Steinholt (1) npr. utvrdio je za konzervirano mlijeko koeficijent korelacije  $r = 0,982$ , dok drugi autori navode slijedeće vrijednosti: Raadsveld (2)  $r = -0,994$ , Heidler (7)  $r = -0,971$ , Vogt (9)  $r = -0,984$ , Förster (16)  $r = -0,997$ , danski »Pro-meter« (23)  $r = -0,995$ ; prilikom naših istraživanja utvrdili smo koeficijent korelacije  $r = -0,994$ . Negativan predznak koeficijenta označuje negativnu korelaciju (za jedinicu porasta  $x$  vrijednosti proporcionalno smanjenje  $y$  vrijednosti).

Širina kolebanja između apsolutnih rezultata kolorimetrijske metode Amidoschwarz i rezultata dobivenim po Kjeldahl metodi, prema nalazima dolje navedenih autora slijedeća je: Peltola, Mälkki (6)  $\pm 0,15$ , Steinholt (1), Raadsveld (2), Probst (13)  $\pm 0,12$ , dok navodi Heidler (7) vrijednost  $\pm 0,07 \%$  bjelančevina.

Prema rezultatima našeg rada vrijednosti za količinu bjelančevina, utvrđene s Amidoschwarz metodom, kod  $95 \%$  analiziranih uzoraka mlijeka (količina bjelančevina u granicama od  $1,98 \%$  do  $3,53 \%$ ) otklanjale su se u granicama od —  $0,06$  do  $+0,04 \%$  bjelančevina ( $\pm 0,05 \%$ ) u odnosu na vrijednost koju smo utvrdili Kjeldahlovom metodom.

U literaturi navedeni podaci tačnosti, izraženi sa standardnom devijacijom određivane Amidoschwarz metode su kod Raadsveld-a (2)  $0,036 \%$ , Post-

humus-a (4) 0,02 %, Vogt-a (9) 0,016 %. Standardna devijacija kolorimetrijskih određivanja kod nas bila je 0,019 % bjelančevina, standardna greška difference iznosila je 0,037 %.

TABELA: Razlike između eksperimentalnih i izračunatih rezultata bjelančevina mlijeka (kolorimetrijska metoda)

% bjelančevina					
Kjeldahl	izračunati	razlika	Kjeldahl	izračunati	razlika
1,98	2,00	+ 0,02	2,69	2,71	+ 0,02
2,05	2,07	+ 0,02	2,74	2,76	+ 0,02
2,08	2,06	— 0,02	2,78	2,78	0,00
2,14	2,14	0,00	2,84	2,88	+ 0,04
2,23	2,22	— 0,01	2,96	2,98	+ 0,02
2,28	2,27	— 0,01	3,06	3,09	+ 0,03
2,34	2,35	+ 0,01	3,14	3,16	+ 0,02
2,38	2,32	— 0,06	3,18	3,19	+ 0,01
2,43	2,40	— 0,03	3,24	3,25	+ 0,01
2,51	2,51	0,00	3,31	3,30	— 0,01
2,59	2,56	— 0,03	3,39	3,38	— 0,01
2,65	2,61	— 0,04	3,49	3,45	— 0,04
2,67	2,67	0,00	3,53	3,52	— 0,01

Uspoređivanjem naših i podataka iz literature zaključujemo, da je komparativnost između Amidoschwarz i Kjeldahl metode i u promijenjenim uslovima rada dobra, te se kolorimetrijska metoda može upotrijebiti za brzo određivanje bjelančevina u mlijeku.

Potrebno je naglasiti, da je za izvođenje kolorimetrijske metode od velike važnosti upotreba Amidoschwarz 10 B otopine s tačno istom koncentracijom i konstantnom ekstinkcijom otopine boje bez dodataka mlijeka, kao i tačno namješten aparat za mjerenje. Već minimalna promjena koncentracije boje znači promijenjene vrijednosti ekstinkcije.

U toku istraživanja posmatrali smo efekt povećane koncentracije konzervansa i kontrolirali efikasnost konzervansa. Kod povećane koncentracije sublimata povisila se je vrijednost ekstinkcije. U istim uzorcima mjerili smo ekstinkcijske vrijednosti ponovno nakon 7., 9., i 10. dana čuvanja u hladnjaku. Rezultati tih mjerenja u pojedinačnim uzorcima bili su različiti. Tako smo u nekim uzorcima izmjerili nakon 10 dana samo nešto niže ekstinkcijske vrijednosti, dok su se kod drugih već nakon 7 dana vrijednosti vrlo snizile. Za tačniju kontrolu potrebno bi bilo kontinuirano određivanje pomenutih vrijednosti, tj. od prvog dana pa dok mlijeko nije koaguliralo. Naša zapažanja poklapaju se s kasnije izrađenim mišljenjem Kiermeier-a i njegovih saradnika (27), da kod konzerviranja i starost mlijeka ima svoje značenje.



## ZAKLJUČAK

U Zavodu za mljekarstvo usvojili smo kolorimetrijsku metodu Amidoschwarz za serijsko određivanje bjelančevina u mlijeku prema modificiranom Steinsholtovom postupku. Pomenuta metoda bila je komparirana s mikro Kjeldahl postupkom na uzorcima sirovog, miješanog mlijeka, konzerviranog sa 6,4 %  $\text{HgCl}_2$ .

Na osnovu 142 uzorka konzerviranog mlijeka u raznim razređenjima, eksperimentalni rezultati pokazali su, da postoji linearan odnos između ekstinkcije nevezane boje (AMS metoda) i količine bjelančevina (Kjeldahl). Linearan odnos prikazan je s jednadžbom regresije:

$$y = 0,6388 - 0,1310 x$$

S pomoću analize varijance ispitana je signifikantnost linearnosti i granice pouzdanosti koeficijenta regresije ( $b = -0,131009 \pm 0,002018$ ). Količinu bjelančevina mlijeka u % izračunali smo prema Amidoschwarz metodi s pomoću slijedeće formule:

$$P = \frac{0,6388 - E}{0,1310}$$

S kolorimetrijskim postupkom određene vrijednosti bjelančevina varirale su u apsolutnim vrijednostima  $\pm 0,05$  % bjelančevina od vrijednosti dobivenih po Kjeldahl postupku. Koeficijent korelacije — 0,994 objašnjava nam, da postoji jaka, negativna korelacija između obe metode, te izražava dobru saglasnost među njima. Standardna devijacija utvrđivanja Amidoschwarz metode je 0,019 %. Standardna greška difference iznosila je 0,037 %.

Metoda je za primjenu u praksi pogodna pod uslovom, da upotrebljavamo uvijek jednaku koncentraciju otopine Amidoschwarz 10 B. Da izbjegnemo greške, odstupanja rezultata kolorimetrijskog postupka od rezultata Kjeldahl metode, nužno je više puta kontrolirati baždarnu krivulju, otopinu boje i fotometar.

## ZUSAMMENFASSUNG

Auf der Anstalt für Milchwirtschaft haben wir ein kolorimetrisches Amidoschwarz — Verfahren zur serienmässiger Bestimmung des Eiweissgehaltes der Milch, nach dem modifizierten Steinsholt-Verfahren erobert. Das vorerwähnte Verfahren wurde bei durch 6,4 %  $\text{HgCl}_2$  konservierten Rohmilchproben mit dem Micro Kjeldahl — Verfahren kompariert.

Auf Grund der experimentalen Resultaten von 142 konservierten und verschiedenen verdünnten Einzelmilchproben hat sich ein lineares Verhältnis zwischen der Extinktion des nicht gebundenen Farbstoffes (AMS — Verfahren) und des Eiweissgehaltes (Kjeldahl) gezeigt. Das lineare Verhältnis ist mit der Regressions — Gleichung  $y = 0,6388 - 0,1310 x$  dargestellt.

Mit der Varianzanalyse wurde der Signifikanzgrad der Linearität und der Zuverlässigkeitsgrad des Regressionskoeffizienten  $b = -0,131009 \pm 0,002018$  beurteilt. Den Eiweissgehalt (in %) der Milch haben wir, nach dem Amidoschwarz — Verfahren, mit Hilfe der folgender Formel berechnet:

$$P = \frac{0,6388 - E}{0,1310}$$

Die Ergebnisse der kolorimetrischen Bestimmungen befanden sich in den absoluten Ergebnissen  $\pm 0,05\%$  des Eiweissgehaltes von den nach der Kjeldahl-Methode bestimmten Ergebnissen. Der Korrelationskoeffizient — 0,994 zeigt, dass eine starke negative Korrelation zwischen den beiden Verfahren besteht und drückt eine gute Übereinstimmung der beiden Verfahren aus. Die Standard Deviation der Bestimmungen des Amidoschwarz-Verfahrens beträgt 0,019%, standard Fehler Differenz ist 0,037%.

Das angewandte Verfahren ist in der Praxis verwendbar unter der Bedingung, dass man stets eine gleiche Konzentration der AMS - 10 B Lösung verwendet. Eine mehrmalige Kontrolle der Eichkurve, der Farbstofflösung und des Photometers ist notwendig, um die Fehler und Abweichungen der kolorimetrischen Methode von den Einzelwerten des Kjeldahl — Verfahrens zu vermeiden.

#### L I T E R A T U R A

- 1) Steinsholt, K.: Dairy S. Abs. Vol. 20, 159/1958, Meieriposten 46, 901/1957.
- 2) Raadsveld, C. W.: Dairy S. Abs. Vol. 20, 526/1958, XV. Int. Dairy Congress London 3., 5., 1638/1959.
- 3) Erb, E. R., Ashworth: Milchwiss. 3., 136/1963.
- 4) Posthumus, G.: Dairy S. Abs. Vol. 23, 245/1961, Milchwiss. 20, 325/1965, Molkerei und Käserei Ztg. 43, 1766/1966.
- 5) Shiga, K., Shimizu, R., Hamada, H.: Dairy S. Abs. Vol. 22, 210/1960.
- 6) Peltola, E., Mälkki, J.: Dairy S. Abs. Vol. 25, 520/1963, Milchwiss. 2, 96/1962, Milchwiss. 12, 706/1962.
- 7) Heidler, W.: Dairy S. Abs. Vol. 25, 439/1963.
- 8) Tschörner, F.: Milchwiss. 5, 234/1965.
- 9) Vogt, K. F.: Dairy S. Abs. Vol. 25, 5/1963.
- 10) Hadland, G., Johnsen, O.: Dairy S. Abs. Vol. 22, 423/1960.
- 11) Dolby, R. M.: J. Dairy Res. 28, 43/1961.
- 12) Kiermeier, F., Renner, E.: Dairy S. Abs. Vol. 23, 186/1961.
- 13) Probst, A. Deutsche Molkerei Zeitung 50, 2040/1964., Molkerei und Käserei Ztg. 13, 14, 428, 467/1964.
- 14) Tarassuk, N. P., Abe, N.: Milchwiss. 10, 532/1963.
- 15) Seals, R., Rippie, E.: Milchwiss. 4, 212/1965.
- 16) Förster, R.: J. Landwirtsch. Forschg. 15, 140/1964.
- 17) Senft, B.: Milchwiss. 6, 315/1960.
- 18) Schober, R., Hetzel, H.: Milchwiss. 11, 123/1956., Milchwiss. 12, 12/1957.
- 19) Moustgarrd, J.: Dairy S. Abs. Vol. 24, 405/1962.
- 20) v. d. Have, Mulder: XIV. Int. Dairy Congress Roma 693/1956.
- 21) Udy, D. C.: Nature 178/1956.
- 22) Mudra, A.: Statistische Methoden 1958.
- 23) ASN, Foss electric: Übersetzung 130. Berichte, Hillóred.
- 24) Grüner, M. s sodelavci: Kemija u industriji 7/1961.
- 25) Ljunggren, B., Lindquist, B.: XVII. Int. Dairy Congress, München, B, 169/1966.
- 26) McNeil, J. E., Heidrick, Stine: Dairy S. Abs. Vol. 26, 2089/1964.
- 27) Kiermeier, F., Taleban, H., Probst, A.: Milchwiss. 21, 151/1966.
- 28) Solberg, P.: Dairy S. Abs. Vol. 25, 170/1963.