

ΑΣΚΗΣΗ 5

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

*Εργαστήριο Ανάλυσης και Τεχνολογίας Τροφίμων
Τμήμα Χημείας, Παν/μιο Ιωαννίνων*

Ιωάννινα 2022



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- Γάλα είναι η φυσιολογική έκκριση του μαστού των θηλαστικών που προορίζεται για κατανάλωση ως πόσιμο γάλα ή ως προϊόντα γάλακτος.
- Το γάλα είναι η πιο πλήρης απλή φυσική τροφή. Προορίζεται από τη φύση ως μοναδική τροφή των νεογνών στα πρώτα στάδια της ζωής τους.
- Σήμερα χρησιμοποιείται κυρίως το αγελαδινό γάλα και δευτερευόντως το πρόβειο και το γίδινο γάλα.

Συστατικά γάλακτος

- Τα κύρια συστατικά του γάλακτος είναι
- Νερό
- Λίπος (με τη μορφή λιποσφαιριδίων)
- Πρωτεΐνες (οι καζεΐνες είναι οι κύριες πρωτεΐνες του γάλακτος βρίσκονται με τη μορφή μικυλλίων. Τα καζεϊνικά μικκύλια βρίσκονται σε κολλοειδή διασπορά)
- Λακτόζη (ανάγων δισακχαρίτης)
- Άλατα, βιταμίνες και ένζυμα.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ειδικό βάρος

- Ποσότητα γάλακτος φέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο με διάμετρο τουλάχιστον 4 cm. Στη συνέχεια στο γάλα βυθίζεται το γαλακτο-αραιόμετρο με ενσωματωμένο θερμόμετρο. Το ειδικό βάρος είναι αντίστροφα ανάλογο με τη θερμοκρασία. Δηλαδή με μείωση της θερμοκρασίας συμβαίνει αύξηση του ειδικού βάρους, και με αύξηση μείωση του ειδικού βάρους.
- Η κλίμακα του αραιομέτρου είναι βαθμολογημένη σε βαθμούς 20-40 που αντιστοιχούν σε τιμές ειδικού βάρους 1,020-1,040.
- Γίνεται διόρθωση με βάση τη μετρούμενη θερμοκρασία με αναγωγή στους 15°C (πρόσθεση ή αφαίρεση).
- Παράδειγμα:
 - εάν στους 20°C το ε.β. είναι 1,031 στους 15°C είναι
 $1,031 + (20-15) \times 0,0002 = 1,032.$
 - εάν στους 10°C το ε.β. είναι 1,031 στους 15°C είναι
 $1,031 - (20-15) \times 0,0002 = 1,030.$



2. Έλεγχος Παστερίωσης

- Ως δείκτης παστερίωσης χρησιμοποιείται η αδρανοποίηση του ενδογενούς ενζύμου του γάλακτος αλκαλική φωσφατάση. Αυτό το ένζυμο αδρανοποιείται με θερμικές κατεργασίες που θανατώνουν τα βλαστικά κύτταρα των παθογόνων βακτηρίων.
- Το ένζυμο καταλύει την υδρόλυση του φαινυλοφωσφορικού δινατρίου. Προϊόν είναι φαινόλη, που ανιχνεύεται με διάφορα αντιδραστήρια όπως το χλωρο-ιμινο-διβρωμο-κινόνη.
- Χρησιμοποιείται τυποποιημένο εμπορικό σύνολο με δισκία. Το ένα δισκίο είναι για τη ρύθμιση του pH, το δεύτερο το υπόστρωμα. Με το τρίτο δισκίο γίνεται ανίχνευση της φαινόλης.



αρνητικό

ελαφρά
θετικό

θετικό

- Σε δοκιμαστικό σωλήνα φέρονται 1 mL γάλακτος και προστίθενται 10 mL απεσταγμένου νερού, ένα δισκίο Lactognost I (για ρύθμιση του pH, buffer), και ένα δισκίο Lactognost II (υπόστρωμα, φαινυλοφωσφορικό δινάτριο). Ακολουθεί ανάμιξη και παραμονή σε υδατόλουτρο στους 37°C για περίπου 30 min.
- Παράλληλα χρησιμοποιούνται και μάρτυρες. Ένας με γάλα (δείγμα) που έχει θερμανθεί στους 90-100°C για περίπου 15 min (μάρτυρας σίγουρα παστεριωμένο γάλα). **Ένας δεύτερος με νωπό γάλα που είναι μάρτυρας σίγουρα μη παστεριωμένου γάλακτος.** Στους δύο μάρτυρες ακολουθείται η ίδια διαδικασία που ακολουθείται για το δείγμα και αναφέρεται παραπάνω.
- Μετά την επώαση στους 37°C για επιτέλεση της ενζυμικής αντίδρασης, σε κάθε ένα δοκιμαστικό σωλήνα (δείγμα, μάρτυρες) προστίθεται μία μεζούρα (0,1 g) Lactognost III (χλωρο-ιμινο-διβρωμοκινόνη), για ανίχνευση της φαινόλης που είναι προϊόν της ενζυμικής αντίδρασης. Ακολουθεί ανάδευση και παραμονή για λίγα min.

3. Στερεό υπόλειμμα

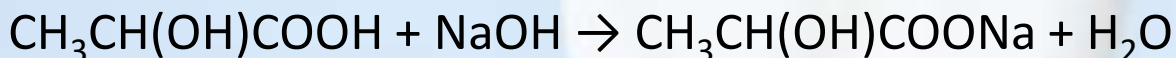
Το στερεό υπόλειμμα προσδιορίζεται με σταθμική μέθοδο.

- Σε **προζυγισμένη** κάψα πορσελάνης φέρονται 10 mL γάλακτος με σιφώνιο των 10mL και ζυγίζονται.
- Προστίθενται λίγες σταγόνες οξικού οξέος ή ακετόνης, για καταβύθιση πρωτεϊνών, για να εξατμιστεί το νερό του γάλακτος χωρίς να προκύψει φούσκωμα. Η κάψα τοποθετείται σε ζέον υδατόλουτρο για περίπου 30 min, με συχνή ανακίνηση, για εξάτμιση της μεγάλης ποσότητας νερού του γάλακτος.
- Στη συνέχεια η κάψα τοποθετείται σε πυριαντήριο 102-105°C, για απομάκρυνση της υπόλοιπης ποσότητας νερού, μέχρι σταθερού βάρους (περίπου 2 ώρες).
- Ζυγίζεται η κάψα με το στερεό υπόλειμμα.
- Το αποτέλεσμα ως % στερεό υπόλειμμα υπολογίζεται με τη μέθοδο των τριών, με βάση το βάρος (ή τον όγκο) του γάλακτος και το βάρος του στερεού υπολείμματος που προέκυψε.

4. Οξύτητα

- Η οξύτητα του γάλακτος οφείλεται κυρίως σε όξινα φωσφορικά άλατα, πρωτεΐνες και στο γαλακτικό οξύ.
- Προσδιορίζεται με ογκομέτρηση με καυστικό νάτριο και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη.

Εξουδετέρωση γαλακτικού οξέος



- Σε κωνική φιάλη φέρονται 25 mL (ή 10 mL) γάλακτος, και ακολουθεί ογκομέτρηση με 0,25 N (ή 0,1 N) NaOH και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη μέχρι να εμφανιστεί ρόδινο χρώμα.
- Το αποτέλεσμα σε % γαλακτικό οξύ υπολογίζεται με βάση το ότι 1 mL 0,1 N NaOH αντιστοιχεί σε 9,0 mg γαλακτικού οξέος.

5. Πρωτεΐνες

Προσδιορισμός πρωτεϊνών με τη μέθοδο της φορμόλης

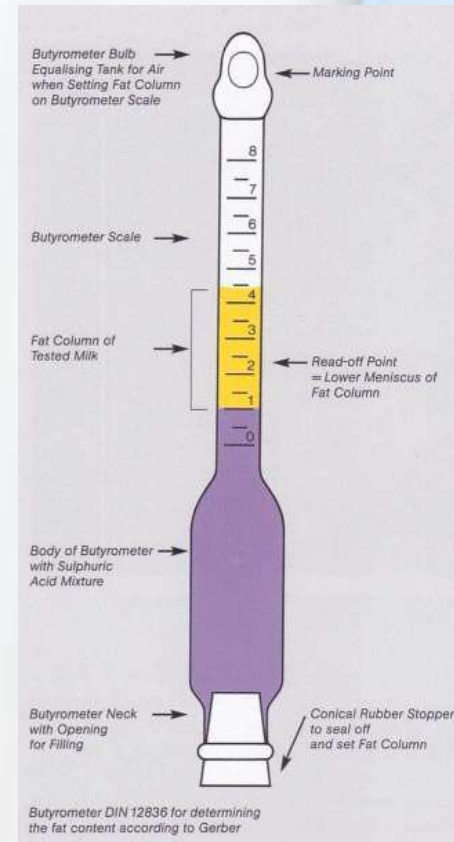
- Η μέθοδος βασίζεται στο ότι με προσθήκη ουδέτερης φορμαλδεΐδης σε ουδέτερα διαλύματα αμινοξέων, αυτά αποκτούν όξινες ιδιότητες. Η φορμαλδεΐδη δεσμεύει την αμινοομάδα και σχηματίζονται μεθυλοενώσεις που έχουν όξινο χαρακτήρα, δηλαδή δεσμεύονται οι αμινοομάδες και οι ελεύθερες καρβοξυλομάδες προσδίδουν όξινο χαρακτήρα.
- Η παρουσία διαλυτού φωσφορικού ασβεστίου είτε κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου επιφέρει αύξηση της τιμής που λαμβάνεται με τη μέθοδο της φορμόλης. Η παραπάνω επίδραση μπορεί να αποφευχθεί με προσθήκη οξαλικών.

- Σε κωνική φιάλη των 100 mL ζυγίζονται 10 g γάλακτος.
- Προστίθενται 0,4 mL ουδέτερου κορεσμένου διαλύματος οξαλικού καλίου για καταβύθιση του φωσφορικού ασβεστίου που επιδρά στον προσδιορισμό.
- Μετά από παραμονή για 2 min γίνεται ογκομέτρηση/εξουδετέρωση με 0,1 N NaOH και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη.
- Στη συνέχεια προστίθενται 2 mL φορμόλης (40 % φορμαλδεΐδη), το μίγμα ανακινείται και ογκομετρείται με διάλυμα 0,1 N NaOH και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (έστω α mL).
- Ταυτόχρονα γίνεται και τυφλός προσδιορισμός, όπου ογκομετρούνται 2 mL φορμόλης και 10 mL απιονισμένου νερού με διάλυμα 0,1 N NaOH και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (έστω β mL).
- Η % πρωτεΐνη προκύπτει από τη σχέση $1,74 \times (\alpha - \beta)$.

6. Λίπος

Προσδιορισμός λίπους με τη μέθοδο Gerber

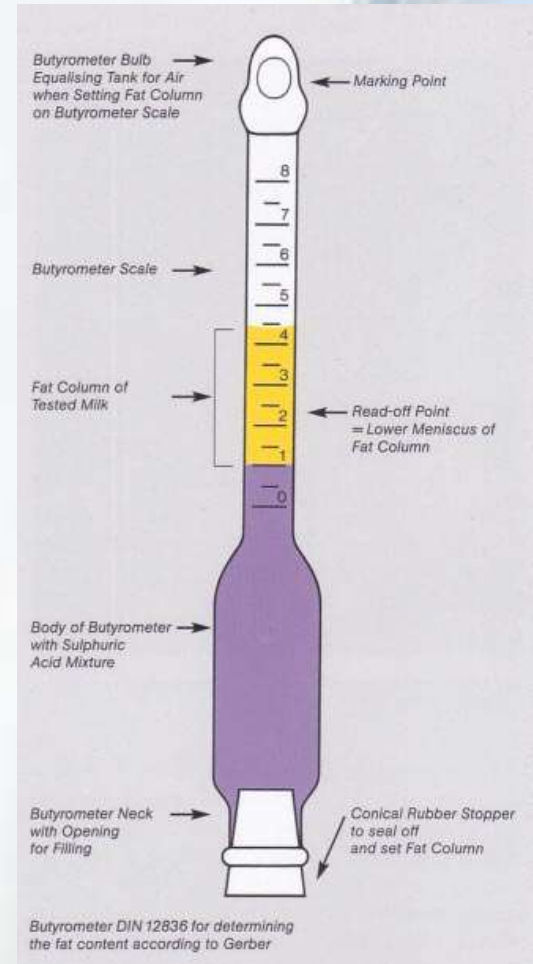
- Η μέθοδος στηρίζεται στο διαχωρισμό του λίπους με φυγοκέντρηση, δεδομένου ότι έχει μικρότερο ειδικό βάρος.
- Γίνεται ανάγνωση της % λιποπεριεκτικότητας σε ειδικά βουτυρόμετρα Gerber.



- Σε ειδικό βουτυρόμετρο Gerber φέρονται 10 mL H₂SO₄ Gerber (ειδικού βάρους 1,812-1,815), 11 mL δείγματος (γάλα), και 1mL αμυλικής αλκοόλης (ειδικού βάρους 0,815).
- Με προσθήκη H₂SO₄ ορισμένης πυκνότητας πραγματοποιείται μετουσίωση, μερική υδρόλυση και διαλυτοποίηση των πρωτεϊνών και έτσι δεν δρουν πλέον ως προστατευτικό κολλοειδές. Ως αποτέλεσμα, το λίπος ανέρχεται στην επιφάνεια και διαχωρίζεται, δεδομένου ότι έχει μικρότερο ειδικό βάρος. Εάν το οξύ είναι αραιότερο ή μη επαρκές η στιβάδα του λίπους θα έχει ανοιχτό χρώμα και δεν θα είναι διαυγής. Εάν το θειικό οξύ είναι πολύ πυκνό ή πολύ περισσότερο προκαλείται μερική απανθράκωση του λίπους.
- Η αμυλική αλκοόλη διευκολύνει τον διαχωρισμό του λίπους. Με μεταβολή της επιφανειακής τάσης καταστρέφει το γαλάκτωμα του λίπους και συντελεί στην πρόληψη της απανθράκωσης του λίπους. Ο όγκος της δεν προστίθεται στη στιβάδα του λίπους καθόσον μετατρέπεται στον διαλυτό θειικό εστέρα της.
- Το βουτυρόμετρο αναταράσσεται και τοποθετείται σε υδατόλουτρο 65°C για 3-15 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται για 4-5 min στις 1000 στροφές/λεπτό.

ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΤΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΔΕΥΣΗ (ιδιαίτερα εξώθερμη αντίδραση)

- Μετά τη φυγοκέντρηση το βουτυρόμετρο τοποθετείται και πάλι σε υδατόλουτρο 65°C, με τον βαθμολογημένο σωλήνα (στέλεχος) προς τα επάνω.
- Ο όγκος της στιβάδας δίνει απευθείας το % ποσοστό του λίπους στο γάλα. Η ανάγνωση του όγκου πρέπει να γίνεται από το κάτω μέρος του μηνίσκου.
- Το βουτυρόμετρο με το κατεργασμένο γάλα θερμαίνεται στους 65°C (όχι πάνω από 70°C) για να λιώσει πλήρως το λίπος και για να γίνει η ανάγνωση του όγκου του στη θερμοκρασία που βαθμολογήθηκε η κλίμακα του βουτυρομέτρου.
- Τα αποτελέσματα εκφράζονται με ακρίβεια πρώτου δεκαδικού, όση είναι και η ακρίβεια των υποδιαιρέσεων της κλίμακας. Η ακρίβεια της μεθόδου φτάνει το 0,05 %.





ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ

για την προσοχή σας