

## Tej és egyes tejtermékek lúgos foszfatáz próbájának változatai

WAGNER ATTILA\*, HORVÁTH LÓRÁND\*, KISS TIBOR\*\*  
és BORSI MIKLÓSNÉ\*

Érkezett; 1975. április 25.

### BEVEZETÉS

Korábbi közleményekben beszámoltunk a tej és tejtermékek hőkezeltségének kimutatásáról (5, 6, 7). Azóta a FIL – IDF (International Dairy Federation) is előterjesztett a tej és a tejpor foszfatáz aktivitásának mérésére javaslatot amely módszer a foszfatáz enzim hatására a fenilfoszfátról lehasadó fenol és a 2–6-dibrómkinonklorimid reakcióján alapszik. A szovjet GOSZT 3623–73(8) szabvány pedig a fenol és a 4-aminoantipirin reakcióra épül.

A nemzetközi módszerek nagyobb eszköz és anyagigénye miatt szükséges az egyszerűbb, érzékenyebb, és a többféle tejtermék vizsgálatára használható eljárások alkalmazását is lehetővé tenni. Ennek megfelelően a foszfatáz próbának többféle változatát dolgoztuk ki, illetve a gyakorlat igényeinek megfelelően módosítottuk és azokat az értékelhetőség, gyakorlatiasság szempontjából összehasonlítottuk.

### Vizsgálati anyagok és módszerek

#### Anyagok

A vizsgálatokhoz nyers, valamint üzemi és laboratóriumi körülmények között pasztörözött tejet, tejszínt, illetve ezekből készített terméket használtunk.

#### Lúgos foszfatáz próba

A következőkben részletesebben kifejtésre kerülő kutatási célkitűzéseknek megfelelően alapvetően az eddigiekben a hazánkban használt lúgos foszfatáz próba, valamint a szovjet szabványokban szereplő ugyancsak lúgos foszfatáz-próba különböző variánsait vizsgáltuk. A hazánkban használt gyors foszfatáz-próba részletes leírása többek között Wagner (5) korábbi munkájában található meg, míg a szovjet szabványos eljárást a GOSZT 3623–73 szabvány (8) írja le.

Az alkalmazott reagenseket a továbbiakban az alábbiak szerint jelöljük:

- I. sz. reagens: KOH-t [4 g/1000 cm<sup>3</sup>] és  
KHCO<sub>3</sub>-t [36 g/1000 cm<sup>3</sup>]  
tartalmazó fenoltaleinfoszfát oldat  
(készítését lásd (5) alatt).

\* Tejtermékek Ellenőrző Állomása, Budapest  
\*\* Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Különböző lúgos fosztatáz próba változataival kapott vizsgálati eredmények összefoglalása

Termék	Reagens (száma)	Reagens mennyisége (cm <sup>3</sup> )	Vizsgálati anyag mennyisége (cm <sup>3</sup> , g)	Visszatompító oldat (jele)	A színreakció hőkezeletlen anyagból készült termék esetében			
					20'		2 h	
					0,5 cm <sup>3</sup> N nátrium hidri nátrium hidroxid oldat			
					adagolás előtt	adagolás után	adagolás előtt	adagolás után
Tej	I	2	2	—	halvány rózsaszín	élénk rózsaszín $x = 0,359$ $y = 0,187$ $Y = 5,9$ $\Delta E_{AN42} = 5,32$	élénk rózsaszín	kárminvörös
Tejszín	II	2	3	—	rózsaszín	rózsaszín $x = 0,339$ $y = 0,239$ $Y = 14,2$ $\Delta E_{AN42} = 3,19$	kárminvörös	élénk kárminvörös
	III	0,2	5	—	élénk rózsaszín	kárminvörös $x = 0,392$ $y = 0,144$ $Y = 6,13$ $\Delta E_{AN42} = 101,5$	élénk kárminvörös	élénk kárminvörös
Aludt-tej	I	2	2	B	halvány rózsaszín	rózsaszín	élénk rózsaszín	élénk rózsaszín kárminvörös
		2	3		rózsaszín			
		2	2	A	fehér			
		2	2		halvány rózsaszín	rózsaszín		élénk rózsaszín
		2	3		halvány rózsaszín gyűrű	halvány rózsaszín	rózsaszín gyűrű	rózsaszín
Tejföl		2	2	D	fehér	élénk rózsaszín $x = 0,320$ $y = 0,320$ $N = 27,7$ $\Delta E_{AN42} = 4,93$	halvány rózsaszín	kárminvörös

	rózsaszín		fehér		E	2	3	2	3	2	2	3	2	3	2	3	2	3	
	rózsaszín		fehér																
	halvány rózsaszín	rózsaszín	halvány rózsaszín	rózsaszín															
Kefir	IV																		élénk rózsaszín
	II	2	3	2	—														élénk rózsaszín $x = 0,345$ $y = 0,252$ $Y = 21,8$ $\Delta E_{AN12} = 4,07$
Krémtúró	III	0,2	5		—														élénk rózsaszín
	I	2	2																—
	IV	2	3		D														—
	II	2	5																halvány rózsaszín $x = 0,319$ $y = 0,296$ $Y = 13,83$ $\Delta E_{AN12} = 7,44$
	III	0,2	5		—														fehér

Megjegyzés: a forralt tej és tejszín, illetve a befőle készült savanyú termékek színreakciója fehér. a savanyú termékek savfoka: 30 °SH

II. sz. reagens: Ammóniumklorid [4 g/1000 cm<sup>3</sup>] és ammónium-hidroxitot (34,8 cm<sup>3</sup> 25%-os oldat literenként) tartalmazó pufferoldat hidrogén-fenoltalein-foszfát szubsztattal.

III. sz. reagens: II. sz. reagens tízszeres puffertöménységgel (ammóniumklorid és ammóniumhidroxid 100 cm<sup>3</sup> desztillált vízben)

IV. sz. reagens: Az I. sz. reagens kétszeres puffertöménységű változata.

### Reakcióelegy színének objektív műszeres mérése

A színmerést Woetsch-féle termosztátban 38 °C-on 20 percig tartó inkubáció után a MOM gyártmányú MOM-COLOR-S objektív tristimulusos színmérő készülékkel végeztük. A színmérésekhez a mintákat 20 mm hosszú küvetta helyezettük oly módon, hogy a minta a küvetta 2 mm vastag üvegfalával buborékmentesen érintkezzék. A méréseket a küvetta falát képező sík optikai üveglapon keresztül végeztük.

A sorozatmérések előtt a küvetta mért oldalával ellentétes oldala mögé felváltva [fehér és fekete papírlemez] helyeztünk. A fehér és fekete háttérrel végzett, mérések eredményei azonosak voltak valamilyen anyag esetében. Ezzel a kísérlettel bizonyítottuk, hogy a műszer a 20 mm hosszú küvetta már nem „lát át” így a mintát szín-mérés szempontjából végtelen vastagságúnak kell tekinteni.



A sorozat színméréshez a vizsgált anyaggal három küvétát töltöttünk fel és a küvéták mindkét átellenes oldalának a színét megmértük. A vizsgált anyag színét hat párhuzamos mérés átlagából határoztuk meg.

A mérés megbízhatósága céljából valamennyi vizsgált anyagot elszíneződve és elszíneződés nélkül egymás után 10–10-szer mértük. Az  $n = 10$ -es mérési sorozatokból meghatároztuk a tapasztalati szórást, valamint 95%-os szinten a megbízhatósági határokat a hat párhuzamos mérés átlagára vonatkozóan. A színreakciók hatékonyságának jellemzésére termékenként külön meghatároztuk a pozitív és negatív reakciót adó minták közötti  $\Delta E$  szinkülönbséget az  $AN_{22}$ -s összefüggés segítségével.

A számításokat HP – 65 típusú, programozható számítógépen végeztük.

### *Néhány általános megfontolás, vizsgálati célkitűzések*

Az elvégzett kísérletek fő célja a vizsgálat egyszerűsítése és a színreakció élénkségének, színerősségének fokozása volt. Ennek egyik lehetséges útja (főként tej és tejszín esetében) a reakcióelegen belül a tej, illetve tejszín mennyiségének (arányának) növelése, a puffer térfogatának csökkentése és koncentrációjának egyidejű emelése révén. Így például a szovjet GOSZT 3623–73 szabványban (8) javasolt II. sz. reagens helyett a tízszeres puffertöménységű III. sz. reagens alkalmazható olyan módon, hogy mindkét esetben a szubsztrát (hidrogén-fenoltalein-foszfát) azonos mennyiségű.

A savanyú termékek lúgos foszfatáz próbájának végrehajtása nehézkes, mert ha a technológiai savanyítás (fermentáció) során a gyártásközi termék savfoka a 27 °SH-t eléri, akkor az enzim a vizsgálataink szerint reverzibilisen elveszti aktivitását.

A savanyú tejtermékek foszfatáz próbája a jelenlegi feltételek mellett négy-féleképpen oldható meg:

- a) Az eddig használt próba (5) mellett (I. sz. reagens) a termékek visszatompításával, mint például a nátronlúg 0,1 N oldatából 1 cm<sup>3</sup> (A oldat), és az 1 N oldatának 0,5 és 1 cm<sup>3</sup> (B és C oldat) mennyiségeinek felhasználásával a próba alkalmazása során.
- b) Savfok szerinti visszatompítással, amelynek segítségével a puffer oldat kimerülését megátoljuk.  
1 °SH visszatompításához 0,1 g nátrium-hidroxid/1000 cm<sup>3</sup> desztillált víz szükséges (1, 3, 4).  
Például 30 °SH savfokú tejtermék vonatkozásában, ha 1 cm<sup>3</sup> visszatompító oldatot alkalmazunk, akkor 3 g (D oldat), ha 2 cm<sup>3</sup> termékkel vizsgálunk 6 g (E oldat), 3 cm<sup>3</sup> felhasználása esetén 9 g (F oldat) nátrium hidroxidot kell 1000 cm<sup>3</sup> desztillált vízben feloldani.
- c) Az I. sz. reagens puffertöménységének kétszeresére növelésével (IV. sz. reagens) az összetevők arányában itt is lehet alkalmazni a visszatompítást.
- d) Nagy kapacitású puffert tartalmazó reagensek alkalmazásával (például a II. számú reagens).

### **Vizsgálati eredmények és értékelésük**

A vizsgálatok eredményeit az 1. táblázatban foglaltuk össze. Az adatok alapján levonható következtetéseket a következőkben összegezzük. Gyakorlatiasság és a színreakció élénksége szempontjából a tej és a tejszín vonatkozásában az MSZ 3710–66 és a GOSZT 3623–73 (8) szabványban leírt tízszeres tömény-

сегű puffert és hidrogénfenoltalein-foszfátot tartalmazó reagens, míg a többi termék vonatkozásában ugyanez a reagens az eredeti töménységben szintén hidrogén-fenoltalein-foszfáttal a legalkalmasabb.

A mérési eredményekből megállapítható, hogy az MSZ 3710–66 szerint végzett vizsgálatok a GOSZT 3623–73 (8) által előírt módszerrel történő végrehajtás eseténél nagyobb színváltozást eredményeztek, mivel a  $\Delta E = 1$  érték az átlagos színhatású ember színkülönbség érzékelésének határértékét jelenti.

A  $\Delta E < 1$  színkülönbségek szemmel nem érzékelhetők, míg a  $\Delta E > 1$  jól látható. A táblázatokban feltüntetett színmérési adatok bizonyítják, hogy valamennyi pozitív reakció jól érzékelhető. Legnagyobb színváltozást a túrónál ( $\Delta E = 7,44$ ), legkisebbet a tejnél ( $\Delta E = 3,19$ ) észleltünk pozitív esetben.

Megállapítható, hogy pozitív esetben a színkülönbség a vizsgálati anyag töménységétől is függ.

A megbízhatósági határok:

$$\varepsilon_x \leq 3,5 \cdot 10^{-3} ; \varepsilon_y \leq 2,5 \cdot 10^{-3} ; \varepsilon_\gamma \leq 0,19.$$

#### IRODALOM

- (1) *Katona, F.*: Tejipari Dolgozók Lapja, 8–9, 19, 1957.
- (2) *Mc Laren, K.*: The Adams – Nickerson Colour – difference Formula. ISDC: aug., 354–366, 1970.
- (3) *Schönherr, W.*: Leitfaden der Milchuntersuchung. S. Hirzel Verlag. Leipzig. 1956.
- (4) *Schönherr, W.*: Tierärztliche Milchuntersuchung. S. Hirzel Verlag. Leipzig. 1965.
- (5) *Wagner, A.*: *Tejipar*, 14, 52, 1965.
- (6) *Wagner, A.*: *Acta Agronomica*, 21, 1–2, 109, 1972.
- (7) *Wagner, A.*: *ÉVIKE*, 19, 3, 1973.
- (8) GOSZT 3623–73.

### ВАРИАНТЫ ЩЕЛОЧНО-ФОСФАТАЗНЫХ ПРОБ МОЛОКА И НЕКОТОРЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

*А, Вагнер – Л, Хорват – Т, Кишиш и М. Борши*

Авторы на основании проведенных испытаний разных вариаций фосфатазных проб а именно до сих пор применяемых венгерской быстрой фосфатазной пробы (5), а так же в Советских стандартах указанных (8) фосфатазных проб, для испытания молока и молочных продуктов считают самым подходящим применять реагент содержащий в 100 см<sup>3</sup> 4 гр. хлористого аммония и 34,8 см<sup>3</sup> 25%-ой аммиак, а так же реагент содержащий 1 гр. кислого – фенолфталеин – фосфата. Для фосфатазной пробы молочных продуктов (сметаны, кефира, кислого молока, кремowego творога) считают подходящим применять реагент содержащий десятикартный раствор выше упомянутого реагента. Время инкубации при 38–40 °C составляет 20 минут или два часа. Объективные измерения света проводимые реакционной смесью удостоверяют выше предлагаемые оптимальные вариации.



## VARIANTEN DER ALKALISCHEN PHOSPHATASEPROBE VON MILCH UND EINIGEN MOLKEREIPRODUKTEN

*A. Wagner, L. Horváth, T. Kiss und M. Borsi*

Auf Grund der Untersuchung von verschiedenen Varianten der bisher angewendeten ungarischen raschen Phosphataseprobe (5) und der nach der sowjetischen Norm vorgeschriebenen Phosphataseprobe wird zur Untersuchung von Milch und Sahne ein in 100 cm<sup>3</sup> 4 g Ammoniumchlorid und 34,8 cm<sup>3</sup> 25% Ammoniumhydroxid, ferner 1 g Hydrogen-Phenolphthaleinphosphat enthaltendes Reagens als geeignetste betrachtet. Zur Phosphataseprobe von Molkereiprodukten (Rahm, Kefir, saure Milch, Cremequark) wird ein Reagens empfohlen, das den vorangehend angegebenen Puffer in einer zehnfachen Verdünnung enthält. Die Inkubationsperiode beträgt bei 38–40 °C 20 Minuten bzw. 2 Stunden. Die in den Reaktionsgemischen durchgeführten objektiven Farbmessungen, die noch fortgesetzt werden, unterstützten die oben empfohlenen optimalen Veränderungen.

## VARIANTS OF THE ALKALINE PHOSPHATASE TEST OF MILK AND OF SOME DAIRY PRODUCTS

*A. Wagner, L. Horváth, T. Kiss and M. Borsi*

On investigating the variants of the Hungarian quick phosphatase test applied so far (5) and of the phosphatase test specified in the Soviet standard (8) the reagent containing in 100 cm<sup>3</sup> 4 g of ammonium chloride and 34.8 cm<sup>3</sup> of 25% ammonium hydroxide, further 1 g of hydrogen-phenolphthalein-phosphate proved to be the most suitable for the investigation of milk and cream. For the phosphatase test of dairy products (such as sour cream, kefir, sour milk, cream-curd) a reagent containing the above specified buffer in a tenfold dilution is suggested. The incubation period is at 38–40 °C 20 minutes and 2 hours, respectively. Objective colour measurements carried out in reaction mixtures which measurements are still in progress, supported the optimum alterations suggested above.