

Primjena infracrvene spektrofotometrijske metode u procjeni patvorenja mlijeka dodatkom Na-bikarbonata

Škof, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:066991>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



PRIMJENA INFRACRVENE SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE U PROCJENI PATVORENJA MLIJEKA DODATKOM Na-BIKARBONATA

DIPLOMSKI RAD

Kristina Škof

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

**PRIMJENA INFRACRVENE SPEKTROFOTOMETRIJSKE
METODE U PROCJENI PATVORENJA MLIJEKA
DODATKOM Na-BIKARBONATA**

DIPLOMSKI RAD

Kristina Škof

Mentorica:

Doc. dr. sc. Nataša Mikulec

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Kristina Škof**, JMBAG 0178110958, rođena 10.05.1997. g. u Zaboku, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

PRIMJENA INFRACRVENE SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE U PROCJENI PATVORENJA

MLIJEKA DODATKOM Na-BIKARBONATA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Kristina Škof**, JMBAG 0178110958, naslova

PRIMJENA INFRACRVE NE SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE U PROCJENI PATVORENJA

MLIJEKA DODATKOM Na-BIKARBONATA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Doc. dr. sc. Nataša Mikulec, mentorica

2. Prof. dr. sc. Neven Antunac, član

3. Prof. dr. sc. Ino Čurik, član

Zahvala

Veliko hvala mojoj mentorici, doc. dr. sc. Nataši Mikulec na iskazanom povjerenju, vodstvu i pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada, kao i kroz studiranje.

Zahvaljujem svim djelatnicima Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode na susretljivosti i pomoći u provedbi eksperimentalnog dijela rada. Također se zahvaljujem svim profesorima i djelatnicima Agronomskog fakulteta na suradnji i prenesenom znanju kroz petogodišnje studiranje.

Hvala svim prijateljima i kolegama s kojima sam dijelila dane i obaveze kroz studentsko razdoblje života. Najveću zahvalnost dugujem svojoj obitelji na razumijevanju i podršci.

„Molite, i dat će vam se; tražite, i naći ćete; kucajte, i otvorit će vam se. Jer svaki, koji moli, prima; tko traži, nalazi; tko kuca otvara mu se. „ (Matej 7, 7-8)

Ovaj diplomski rad napravljen je u sklopu projekta „ Potencijal mikroinkapsulacije u proizvodnji sireva“, K.K.01.1.1.04.0058

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Patvorenje hrane.....	3
2.1. Patvorenje mlijeka	3
2.1.1. Natrijev bikarbonat.....	6
3. Metode za otkrivanje patvorenja mlijeka	7
3.1. Spektrofotometrijska metoda	7
3.1.1. Spektrofotometrijska metoda s Fourierovom transformacijom	8
4. Materijali i metode rada.....	13
4.1. Metode rada.....	13
4.1.1. Instrumentalna analiza mlijeka	13
4.1.2. Spektrofotometrijska metoda analize mlijeka	15
4.1.3. Statistička obrada podataka.....	15
5. Rezultati istraživanja i rasprava	16
5.1. Utvrđivanje pH vrijednosti mlijeka	16
5.2. Utvrđivanje NaHCO_3 prije i nakon dodavanja u mlijeko	18
5.3. Utvrđivanje osnovnog kemijskog sastava mlijeka	22
6. Zaključak	24
7. Popis literature	25
8. Popis tablica, slika i grafikona.....	28
8.1. Popis tablica	28
8.2. Popis slika.....	28
8.3. Popis grafikona	28
Prilozi.....	30
Životopis	33

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Kristine Škof**, naslova

PRIMJENA INFRACRVENE SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE U PROCJENI PATVORENJA MLIJEKA DODATKOM Na-BIKARBONATA

Patvorenje mlijeka predstavlja značajan problem u mljekarskoj industriji. Definira se kao svako naknadno dodavanje strane tvari ili izdvajanje postojećih sastojaka iz mlijeka, a predstavlja rizik za zdravlje potrošača i neprikladnost daljnje prerade mlijeka u mliječne proizvode. Za otkrivanje patvorenja mlijeka koriste se razne metode, a jedna od njih je spektrofotometrijska metoda. Cilj rada je dokazati prisutnost Na-bikarbonata (NaHCO_3) u mlijeku MID-infracrvenom FTIR spektrofotometrijskom metodom, na instrumentu Milkoscan FT3 (*Foss Electric, Danska*). U radu su analizirana 62 uzorka kravljeg mlijeka u koje je dodano (eng. w/v) 0,09%, 0,19% i 0,29% NaHCO_3 u bočice volumena 50 mL. Prema dobivenim rezultatima zaključuje se da je spektrofotometrijska metoda na instrumentu Milkoscan FT3 pogodna za dokazivanje prisutnosti Na-bikarbonata (NaHCO_3) u mlijeku.

Ključne riječi: *patvorenje mlijeka, Na-bikarbonat, spektrofotometrijska metoda, Milkoscan FT3*

Summary

Of the master's thesis – student **Kristina Škof**, entitled

APPLICATION OF INFRARED SPECTROPHOTOMETRIC METHOD IN THE EVALUATION OF MILK ADULTERATION WITH THE SODIUM BICARBONATE

Milk adulteration is present in the world's dairy industry. It is defined as any subsequent addition of a foreign substance or its extraction from the milk. It presents a problem because of consumer health risks and the impossibility of further processing the milk into dairy products. Various methods are used to detect milk adulteration, and one of them is the spectrophotometric method. The experimental part of this graduate thesis is based on proving the addition of sodium bicarbonate in milk by MID-infrared FTIR spectrophotometric method on Milkoscan FT3 (Foss Electric, Denmark) instrument. In total 62 (50 mL) samples of cow's milk were analyzed. The samples were adulterated with 0.09%, 0,19% i 0,29% NaHCO₃ (w/v). According to the results, it is concluded that the spectrophotometric method on Milkoscan FT3 is suitable for discovering milk adulteration with sodium bicarbonate (NaHCO₃).

Keywords: *milk adulteration, sodium bicarbonate, a spectrophotometric method, Milkoscan FT3*

1. Uvod

Značajan udio prehrane populacije čini mlijeko, koje je prirodna hrana bogate hranjive vrijednosti. Mlijeko je lako kvarljiva namirnica složenog kemijskog sastava. Sastoji se od velikog udjela vode (~87%), bjelančevina, mliječne masti, mliječnog šećera ili laktoze, mineralnih tvari i vitamina. Prema *Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (NN 136/20), pH vrijednost sirovog kravljeg mlijeka mora biti od 6,5 do 6,7. Razgradnjom laktoze u mlijeku, mikroorganizmi stvaraju veće količine mliječne kiseline (Antunac i Havranek, 2013). Djelovanjem mikroorganizama nastaje naknadna ili stečena kiselost mlijeka (Samaržija, 2015). Ako mlijeko nije adekvatno skladišteno dolazi do zakiseljavanja i pojave grušanja. Zakiseljavanje mlijeka jedna je od najčešćih promjena koja onemogućava iskoristivost mlijeka i/ili preradu u mliječne proizvode. Do patvorenja mlijeka dolazi zbog očuvanja roka valjanosti, smanjenja gubitaka te većeg profita. U mlijeko se dodaju različite kemijske tvari koje nisu uobičajeni sastojci mlijeka, međutim postoje analitičke metode za njihovo dokazivanje. Patvorenje mlijeka u mliječnoj industriji predstavlja rizik za zdravlje potrošača i dovodi do neprikladnosti za daljnju preradu u mliječne proizvode.

Za sigurnost hrane i zaštitu potrošača sve veći značaj poprimaju otkrivanja i utvrđivanja patvorenja. Nove načine patvorenja, koji se kontinuirano pojavljuju povećanom potražnjom mlijeka na tržištu, zahtjevno je detektirati uz adekvatne metode. Često su starije instrumentalne odnosno referentne metode analize duge i zahtjevnije od novijih metoda koje su brze i puno jeftinije za upotrebu, zbog minimalne pripreme uzoraka. MID-infracrvena FTIR spektrofotometrijska metoda se primarno koristi za određivanje kemijskog sastava mlijeka, ali primjenom uz ciljne modele na brzi se način mogu detektirati odstupanja od uobičajenih karakteristika mlijeka. Moguće pojave abnormalnosti su posljedice patvorenja mlijeka dodatkom tvari poput vode, uree, masti, proteina, formalina, natrijevog bikarbonata, formaldehida itd.

U Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, analizirani su uzorci kravljeg mlijeka instrumentalnom i ionometrijskom metodom. Cilj eksperimentalnog rada je utvrđivanje prikladnosti otkrivanja patvorenja mlijeka dodatkom natrijevog bikarbonata (NaHCO_3) s MID-

infracrvenom FTIR spektrofotometrijskom metodom, na instrumentu Milkoscan FT3 uz ciljani model (AN 5488) za dokazivanje patvorenja. Za praćenje utjecaja dodatka na mlijeko, određivana je pH vrijednost ionometrijskom metodom pomoću pH-metra.

Primjena MID-infracrvene FTIR spektrofotometrije imati će veliki praktični doprinos u otkrivanju patvorenja mlijeka ako se potvrdi zadovoljavajuća osjetljivost metode za utvrđivanje NaHCO_3 u mlijeku.

2. Patvorenje hrane

Patvorenje hrane je prisutno još od davnina, ali rastom i razvojem prehrambene industrije postalo je globalno prošireno. Može biti prisutno namjerno ili nenamjerno odnosno slučajno patvorenje hrane tijekom tehnoloških procesa proizvodnje uz nedostatak odgovarajuće higijene prilikom rukovanja, skladištenja, transporta ili distribucije (Ayza i Belete, 2015). Postupci patvorenja hrane su razrjeđivanje, zamjena ili dodavanje sastojaka, pogrešno označavanje odnosno deklariranje proizvoda, navođenje lažnih ili obmanjujućih izjava o proizvodu, a u većini slučajeva radi ekonomske dobiti (Damjanović i sur., 2006). Razlozi patvorenja mogu biti povećanje vrijednosti proizvoda ili smanjenje troškova proizvodnje. Patvorenjem se mijenjaju svojstva i zdravstvena sigurnost izvornog proizvoda a rizik za zdravlje predstavljaju različite tvari i bolesti koje se prenose putem hrane.

Prema dostupnim podacima najviše se od hrane patvori maslinovo ulje, mlijeko, med, šafran, kava, sok od jabuke i naranče itd. Potrošače se ne smije obmanjivati načinom označavanja vezano za karakteristiku hrane, prirodu hrane, identitet, svojstva, sastav, količinu, trajnost, podrijetlo te postupak proizvodnje. Glavni problemi patvorenja su javnozdravstveni rizik, neprihvatanje proizvoda na tržištu zbog nedostatka originalnosti te smanjenje povjerenja potrošača (Jonhson, 2014). Konzumacija patvorene hrane može kod potrošača uzrokovati gastrointestinalne probleme, glavobolje, oštećenja jetre, bubrega itd.

Sve veći značaj poprimaju postupci otkrivanja i utvrđivanja patvorenja zbog povećanog rizika od patvorenja hrane (Spink i Moyer, 2011). Hrana koja se stavlja na tržište Republike Hrvatske mora biti označena, reklamirana i prezentirana sukladno zakonskoj regulativi.

2.1. Patvorenje mlijeka

Patvorenje mlijeka je jedan je od rastućih problema u mljekarskoj industriji te predstavlja značajan rizik za ljudsko zdravlje i financijske gubitke zbog otežanih tehnoloških postupaka prerade patvorenog mlijeka (Handford i sur., 2016). Patvorenje mlijeka je svako naknadno dodavanje strane tvari ili izdvajanje određenih sastojaka iz mlijeka, čime se mlijeko svrstava među sedam najčešće patvorenih namirnica (Moore i sur., 2012; Azad i Ahmed,

2016). Postoje različiti oblici patvorenja mlijeka, a većinom je razlog patvorenja veći profit, iako do patvorenja može doći zbog promaknuća u tehnologiji uzgoja mliječnih životinja te proizvodnje mlijeka i mliječnih proizvoda, čime se poboljšavaju higijenski uvjeti mlijeka (Das i sur., 2016). Tvari kojima se najčešće patvori mlijeko su voda, sirutka, natrijev hidroksid, urea i melamin (Kartheek i sur., 2011). U nekim slučajevima se dodaju detergentski, masti, proteini, šećeri, hidrokisprolin, natrijev bikarbonat, maltotreksin, cijanurična kiselina te formaldehid koje ne potječu od mlijeka.

Najčešći i najjednostavniji oblik patvorenja mlijeka je dodavanje vode za dobivanje veće količine mlijeka, ali je razvodnjeno mlijeko manje nutritivne vrijednosti (Škrinjar, 1984). Ako je dodana voda kontaminirana kemikalijama ili patogenima, može uzrokovati zdravstvene probleme. Dodavanjem vode se točka leđišta povisuje prema 0°C, a za otkrivanje patvorenja se koristi instrumentalna metoda mjerenja točke leđišta. Razvodnjeno mlijeko predstavlja ozbiljan problem za dojenčad i djecu koja mogu biti izložena pothranjenosti. Svaka dodana tvar u mlijeko može uzrokovati problem za zdravlje potrošača kao što je navedeno u Tablici 1.

Tablica 1. Prikazani dodaci u mlijeku i rizik za zdravlje potrošača

Dodaci u mlijeku	Rizik za zdravlje
Razlog dodavanja: da bi se povećala gustoća i viskoznost te održao sastav masti, ugljikohidrata i bjelančevina	
Voda	Pothranjenost
Obrano mlijeko u prahu	ima smanjeni udio masnih kiselina i vitamina topljivih u mastima
Rekonstruirano mlijeko	
Sirutka u prahu	
Šećeri (sukroza/glukoza)	rizik za dijabetičare
Rižino brašno	
Škrob	
Biljna ulja	rizik za alergične ljude
Životinjska mast	
Urea	proljevi, bolest bubrega, gastrointestinalna oštećenja, očna oštećenja

Melamin	toksični šok, hipertenzija, rak mokraćnog mjehura, zatajenje bubrega, čak i smrt
Amonijev sulfat	hipertenzija
Razlog dodavanja: produljenje trajnosti mlijeka	
Led	može biti kontaminiran
Formalin	povraćanje, proljev, povišena tjelesna temperatura, dermatitis, bolovi u trbuhu, oštećenje jetre i bubrega, očna oštećenja
Vodikov peroksid	mučnina, povraćanje, gastritis, umor
Salicilna kiselina	iritacija probavnog trakta, krvarenje, proljev, čak i smrt
Natrijev hidroksid	povraćanje, opekline usne šupljine i probavnog sustava
Borna kiselina	mučnina, povraćanje, glavobolja, proljev, grčevi, oštećenje bubrega
Benzoeva kiselina	mučnina, glavobolja, astma, urtikarija, hiperaktivnost i poremećaj u ponašanju djece
Razlog dodavanja: prikrivanje kiselosti mlijeka	
Neutralizatori (karbonat/bikarbonat)	gastrointestinalni problemi (povraćanje i proljev), neuravnoteženost hormona rasta i plodnost
Razlog dodavanja: za poboljšanje izgleda mlijeka nakon razrjeđenja	
Detergenti	gastrointestinalni problemi (povraćanje i bolovi u trbuhu), hipotenzija, iritacija dišnog sustava, rak
Razlog dodavanja: za poboljšanje boje mlijeka tj. bijele boje	
Urea	proljev, zatajenje bubrega, gastrointestinalna oštećenja, očna oštećenja
Kalcij i kalij tioglikolat	

Izvor: Hanford i sur. (2016.)

Često se u mljekarskoj industriji dodaje rekonstituirano mlijeko u prahu u pasterizirano ili sterilizirano mlijeko, zbog povećanja gustoće i viskoznosti te za održavanje sastava masti, ugljikohidrata i bjelančevina, ali se na tržište postavlja bez oznake na deklaraciji čime se dovodi potrošače u zabludu. Također se dodaju tvari: šećer, biljna ulja, urea, melamin, amonijev sulfat

i dr. Za produljenje trajnosti se koriste led, formalin, vodikov peroksid, salicilna kiselina i dr., dok se za prikrivanje kiselosti dodaju neutralizatori: natrijev karbonat ili natrijev bikarbonat. Za poboljšanje izgleda mlijeka nakon razrjeđenja se dodaju detergentsi, a za poboljšanje boje mlijeka urea ili kalcij/kalij tiogliolat. Svaka od navedenih tvari predstavlja rizik za zdravlje potrošača i može uzrokovati pojave alergija, gastrointestinalne probleme i dr. kao što je navedeno u Tablici 1.

2.1.1. Natrijev bikarbonat

Natrijev bikarbonat (NaHCO_3) ili soda bikarbona je bijeli kristalni prah, slabo topljiv u vodi. Jestiv je i ima blagi, slani okus, a zbog svoje slabe lužnatosti se koristi za neutraliziranje kiselina. Primjenjuje se u proizvodnji praška za pecivo, u kozmetičkoj proizvodnji, u proizvodnji pjenušavih napitaka, medicini i drugo.

(Izvor: https://hr.wikipedia.org/wiki/Natrijev_hidrogenkarbonat)

Povećanje kiselosti mlijeka jedna je od najčešćih promjena mlijeka koja ugrožava njegovo iskorištavanje ili preradu u mliječne proizvode. Dodavanjem NaHCO_3 neutralizira se kiselost i sprječava zgrušavanje mlijeka, ali razvoj mikroorganizama u mlijeku nije zaustavljen. Zbog toga se upotreba NaHCO_3 smatra štetnom jer mikroorganizmi daljnjim djelovanjem razgrađuju pojedine sastojke mlijeka, a mjerenjem pH vrijednosti se ne očitava promjena na ostalim sastojcima mlijeka.

3. Metode za otkrivanje patvorenja mlijeka

Metode za otkrivanje patvorenja hrane ovise o vrsti patvorenja. Neke od metoda za otkrivanje patvorenja mlijeka i mliječnih proizvoda su kromatografija, spektroskopija i dr. uz analitičke tehnike poput mjerenja točke ledišta mlijeka krioskopskom metodom, elektroforeza itd. (Banti, 2020). Praćenje procesa i kontrolu kvalitete omogućava primjena spektrofotometrijske metode za brzu i isplativu kvalitativnu i kvantitativnu analizu u mljekarstvu.

3.1. Spektrofotometrijska metoda

Za praćenje kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda koriste se razne analitičke metode, ali su neprikladne za obradu velikog broja uzoraka zbog potrebnog vremena i visokih troškova analize. U zamjenu za uobičajene, skupe i zahtjevne klasične analitičke metode razvijeni su mjerni instrumenti čiji se rad temelji na kemijskim i fizikalnim svojstvima mlijeka, bez ili uz minimalnu obradu odnosno pripremu uzorka. Infracrvena (IR) spektrofotometrijska metoda je instrumentalna metoda za detekciju infracrvenog zračenja (Škorić, 2016). Apsorpcijom elektromagnetskog zračenja dolazi do pobuđivanja molekularnih vibracija, a specifičnost vibracija svake molekule omogućuje određivanje, odnosno identifikaciju tvari (De Marchi i sur., 2016). Snimka apsorbiranog svjetla se prikazuje kao funkcija valne duljine odnosno IR spektara. Područja infracrvenog zračenja se dijele na blisko, srednje i daleko sa razlikom u vrijednosti valnog broja.

Spektrofotometrijskom metodom se proučava apsorpcija elektromagnetskih spektara atoma i molekula odnosno elektromagnetsko zračenje (Mađerić, 2016). Vrlo je razvijena metoda i zbog mogućnosti određivanja fizikalnih i kemijskih osobina neke tvari koristi se u raznim područjima od prehrambene i kemijske industrije, medicine itd. Spektrofotometrijske metode koje se koriste su infracrvena spektrofotometrija, ultraljubičasta spektrofotometrija i spektrofotometrija masa. Prednosti Fourierove transformacije infracrvenog spektra (FTIR) u odnosu na druge spektroskopske metode su visoka osjetljivost i količina informacija te dobra ponovljivost (Karoui i sur., 2003, prema Matijević i Blažić, 2008). Omogućava brzo mjerenje velikog broja uzoraka da se pri tome uzorak ne uništi. Mlijeko je složenog kemijskog sastava, a MID spektrofotometar s ugrađenim FTIR interferometrom ima mogućnost skeniranja

potpunog infracrvenog spektra i određivanje velikog broja parametara (masti, proteina, ugljikohidrata, suhe tvari, suhe tvari bez masti, ukupnih šećera, glukoze, fruktoze, saharoze, laktoze, limunske kiseline, uree i količine dodane vode).

3.1.1. Spektrofotometrijska metoda s Fourierovom transformacijom

Nova generacija spektroskopskih instrumenata za analizu mlijeka, kao što je Milkoscan FT3 (FOSS Electric, Danska), radi na principu Fourierove transformacije infracrvenog spektra (Kittvachra i sur., 2006). Infracrvenom spektrofotometrijskom metodom s Fourierovom transformacijom (FTIR) se identificiraju sastavnice uzorka analizom apsorpcijskih ili emisijskih spektara infracrvenog zračenja. Ovo osnovno mjerenje FTIR metode daje više informacija od klasične IR spektroskopije. FTIR spektrofotometrijska metoda je sekundarna laboratorijska metoda za određivanje mliječne masti, proteina, suhe tvari, šećera i drugih parametara u uzorcima.

Jedan od razvijenih modela instrumenata FOSS tehnologije je ciljani model Milkoscan FT3 (Slika 1.) Koristi se za analizu mlijeka i mliječnih proizvoda poput vrhnja, jogurta, sirutke, proteinskih koncentrata, čokoladnog mlijeka. Uključuje sirovo mlijeko, obrano mlijeko i druge vrste obrađenog mlijeka.

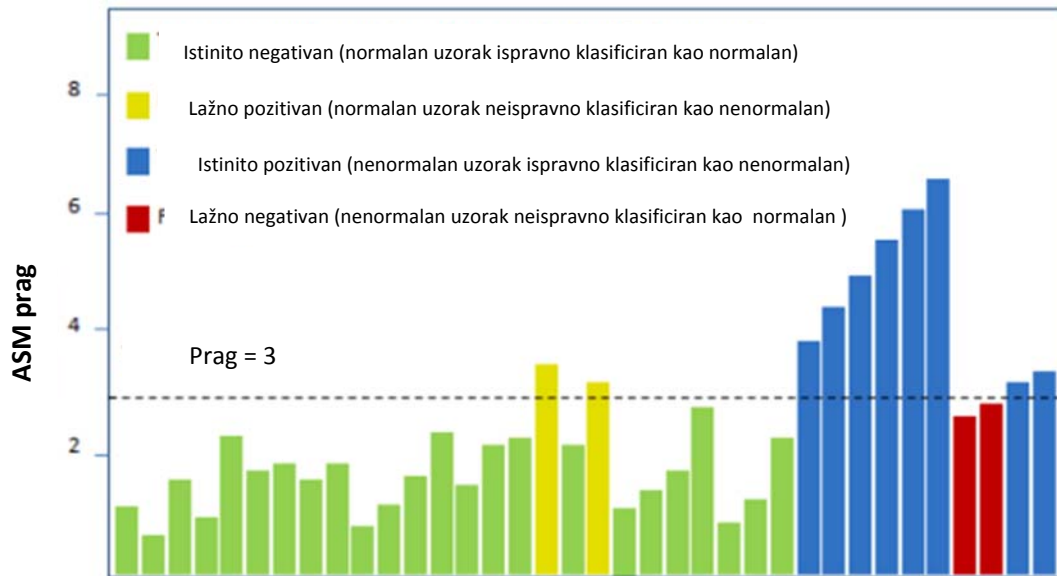


Slika 1. Milkoscan FT3 (Izvor: Foss Electric, Danska)

Instrument mjeri svjetlost koja prvo od izvora prolazi kroz interferometar gdje se modificira i zatim prolazi kroz uzorak. Odvija se apsorpcija svjetlosti, ovisno o uzorku, a instrument zatim detektira svjetlost na svakoj valnoj duljini, obradi te prikaže podatke u obliku spektra koristeći Fourierovu tehniku transformacije. FTIR interferometar skenira cijeli spektar u rasponu MIR (2500-25000 cm^{-1}) s otkrivanjem razlika između nepatvorenog, normalnog i abnormalnog odnosno patvorenog mlijeka (Ponia i sur., 2017) dok je u ovom radu valna duljina rezultata instrumenta 900-5000 cm^{-1} . Osim za utvrđivanje osnovnog sastava mlijeka može se koristiti za brzo otkrivanje patvorenja mlijeka te očitava slijedeće parametre: amonijev sulfat, cijanurična kiselina, formaldehid, glukoza, hidroksiprolin, maltodekstrin, maltoza, melamin, natrijev bikarbonat, natrijev karbonat, natrijev klorid, natrijev citrat, sorbitol, sukroza, dodana urea, dodana voda i AFI (komponente za masnoću u mlijeku) odnosno komponente za miješanje masnoća u mlijeko.

Uspoređujući s ostalim analitičkim metodama, zahtijeva malo ili nimalo pripreme uzoraka i prikladna je metoda za rukovatelja uz pouzdanu točnost rezultata i mogućnost ponovljivosti. Kako bi analiza bila točna, uzorci za analizu trebaju se zagrijati u vodenoj kupelji pri temperaturi od 40 °C. Analiza uzoraka traje 30 s te je moguće obraditi do 500 uzoraka na sat (<https://www.fossanalytics.com/de-de/products/milkoscan-ft3>). Ovom metodom se na brz i jednostavan način mogu dokazati tvari kojima se patvori mlijeko što je posebno važno u mljekarskoj industriji jer patvoreno mlijeko nije pogodno za daljnju preradu u mliječne proizvode.

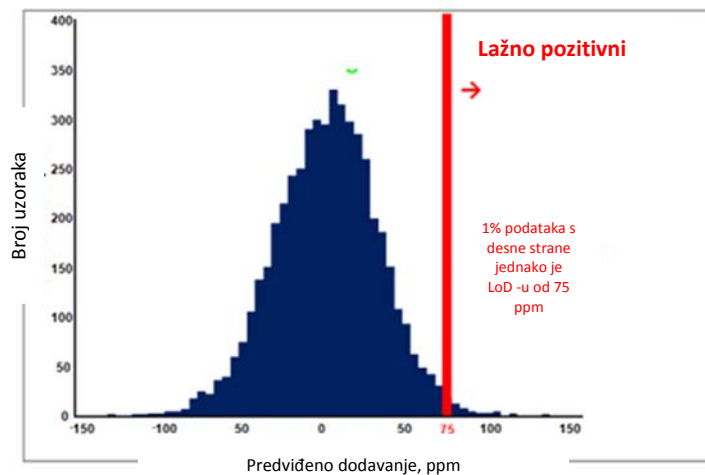
Sirovo mlijeko ima određeni infracrveni spektar, tj. „jedinstveni otisak prsta.“ Spektri očitani iz uzoraka se uspoređuju s takozvanim profilom normalnog mlijeka pohranjenog u programu instrumenta. Instrument izdaje upozorenje za svaku abnormalnost odnosno neusklađenost u obliku ASM (neciljani model za dokazivanje patvorenja) ocjene. Uzorak se može klasificirati ili kao „normalno“ (ASM ocjena < prag) ili „nenormalno“ (ASM ocjena > prag). Na rizik od patvorenja ukazuje nenormalan uzorak. Prag ASM ocjene se određuje primjenom modela velikog skupa normalnih uzoraka te se definira granica za klasifikaciju mlijeka. Primjer rezultata ne-ciljanog modela prikazan je na Grafikonu 1.



Grafikon 1. Primjer rezultata ne-ciljanog modela

(Izvor: MilkoScan FT1 Subject: Processed Milk Untargeted Adulteration Screening)

Za klasifikaciju se koristi ASM prag vrijednosti 3 i zelenim stupcima su prikazani uzorci klasificirani kao normalni dok su rezultati nenormalnih uzoraka iznad praga, u ovom slučaju žute i plave boje, dok su crveno označeni blizu granice. Standardna devijacija (SD) za normalnu raspodjelu uzoraka pomaže s postavljanjem granice detekcije (eng. LoD-a) kao što je prikazano na Grafikonu 2. Postavljena je granica između prihvatljivih rezultata s lijeve i lažno pozitivnih s desne strane (na slici je prikazano 0,0075 %), a odluku o stopi prihvaćanja rezultata donosi korisnik.



Grafikon 2. Primjer grafikona s granicom detekcije (Izvor: Milkoscan FT1, Application Note)

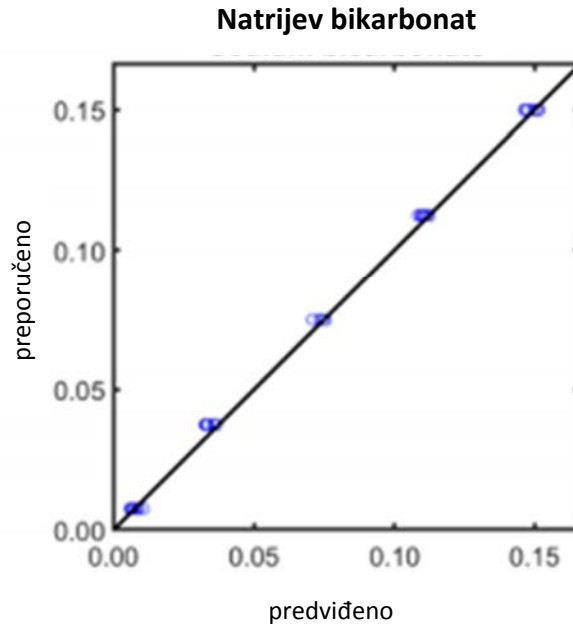
Različite dodane tvari u mlijeko rezultiraju različitim granicama detekcije (eng. LoD). U Tablici 2 su navedene granice detekcije za određene parametre dobivene na temelju 75 uzoraka, osim za dodanu vodu na 260 uzoraka. Granica detekcije za natrijev bikarbonat je 0,010%.

Tablica 2. Parametri i određene granice detekcije

Parametar	Broj uzoraka	LoD (%)
Amonijev sulfat	75	0,011
Cijanurična kiselina	75	0,004
Formaldehid	75	0,032
Glukoza	75	0,062
Hidroksiprolin	75	0,014
Maltodekstrin	75	0,044
Maltoza	75	0,054
Melamin	75	0,013
Natrijev bikarbonat	75	0,010
Natrijev karbonat	75	0,008
Natrijev klorid	75	0,150
Natrijev citrat	75	0,038
Natrijev nitrat	75	0,005
Sorbitol	75	0,052
Sukroza	75	0,037
Dodana urea	75	0,025
Dodana voda	260	3,200
AFI (komponentne za masnoću u mlijeku)	75	0,036

Izvor: Application Note, Milkoscan FT3

U Grafikonu 3 su prikazani rezultati povećane količine patvoritelja točnije natrijevog bikarbonata, analizirani instrumentom Milkoscan FT3 (Foss Electric, Danska).



Grafikon 3. Prikaz rezultata povećane količine natrijevog bikarbonata
(Izvor: Application Note, Milkoscan FT3)

Milkoscan FT3 (FOSS Electric, Danska) predstavlja izvanredan instrument u svrhu praćenja i poboljšanja kvalitete mlijeka te osiguranja sigurnosti hrane. Ima razvijen jednostavan sustav samo-dijagnostike i kontinuirano praćenje stanja vitalnih komponenti te automatski šalje obavijest ako jedna od komponenti zahtijeva održavanje. Prije analize instrument provodi pred kalibracijski postupak za provjeru radnog stanja i stabilnost očitavanja (Lynch i sur., 2006).

4. Materijali i metode rada

Ekperimentalni dio rada proveden je u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prikupljena su 62 uzorka sirovog kravljeg mlijeka, u razdoblju od veljače do kolovoza 2021. godine na mljekomatima različitih lokacija u Zagrebu i od manjih proizvođača mlijeka. Uzorci mlijeka su šifrirani kako bi se s njima objektivno rukovalo za vrijeme izvođenja. U svaki pojedini uzorak se, prema masenom udjelu, dodala unaprijed zadana količina natrijevog bikarbonata (NaHCO_3) odnosno 0,29 %, 0,19 % i 0,09 % NaHCO_3 .

Uzorci su podijeljeni u dvije skupine od 32 odnosno 25 uzoraka. Prva skupina je podijeljena u 3 podskupine (A, B i C). Prema količini uzorka od 50 mL izračunati je, prema masi uzorka (51. g mlijeka), maseni udio dodavanja NaHCO_3 za svaku uzoraka. U 16 uzoraka podskupine A je dodano 150 mg NaHCO_3 odnosno maseni udio od 0,29 % mase uzorka, u 11 uzoraka podskupine B po 100 mg (0,19 %) te u 10 uzoraka po 50 mg (0,09 %), dok je u drugu skupinu uzoraka, odabrana kao srednja količina dodavanja NaHCO_3 od 0,19 %, u 25 uzoraka dodano 100 mg NaHCO_3 .

4.1. Metode rada

4.1.1. Instrumentalna analiza mlijeka

Instrumentalnom metodom je izmjerena pH vrijednost odnosno kiselost uzoraka kravljeg mlijeka pH metrom, SevenMulti, Mettler Toledo, Švicarska (Slika 2). Mjera kiselosti neke otopine je pH vrijednost koja se određuje prema koncentraciji vodikovih (H^+) iona. Prije mjerenja potrebno je kalibrirati pH metar. Za umjeravanje instrumenta se koriste puferne otopine vrijednosti pH 4,01 i 7,00. Nakon uranjanja elektrode u otopinu odnosno uzorak, elektroda se ispire destiliranom vodom i obriše papirnatom maramicom prije mjerenja sljedećeg uzorka.



Slika 2. Mjerenje pH vrijednosti

Prikupljeno mlijeko jer razdijeljeno u bočice od 50 mL. Neposredno nakon pripreme uzoraka i temperiranja pri sobnoj temperaturi izmjerena je pH vrijednost svakog pojedinog uzorka mlijeka (1. dan). Zatim nakon 24 sata ponovno je izmjerena pH vrijednost prije dodavanja NaHCO_3 (2. dan). Nakon prirodnog zakiseljavanja uzoraka dodana je NaHCO_3 (slika 3).



Slika 3. Na – bikarbonat (NaHCO_3)

Nakon miješanja i otapanja dodatka u periodu od 1 sata, izmjerena je pH vrijednost i svaki uzorak je analiziran na instrumentu Milkoscan FT3 (*FOSS Electric, Danska*), na valnoj duljini očitavanja spektra $900 - 5000 \text{ cm}^{-1}$.

4.1.2. Spektrofotometrijska metoda analize mlijeka

Za određivanje osnovnog kemijskog sastava mlijeka korišten je instrument Milkoscan FT3 (*Foss Electric, Danska*), koji radi na principu Fourierove transformacije infracrvenog spektra. Uzorci su prije analize zagrijani u vodenoj kupelji pri $40 \text{ }^\circ\text{C}$, a postavke instrumenta se prije analize postavljaju na program „sirovo kravlje mlijeko“. Uz osnovni kemijski sastav, na instrumentu se očitavala količina dodanog NaHCO_3 (%) zbog činjenice da instrument ima sposobnost očitavanja patvorenja mlijeka odnosno detektiranja dodane tvari. Uz patvorenje, na instrumentu su praćeni dodatni parametri: sadržaj suhe tvari laktoze te gustoća mlijeka.

4.1.3. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišten je programski paket *Microsoft Excell (2016)* i statistički paket *SAS 9.4 (Cary, NC:SAS Institute Inc.)*, primjenom General Linear Model (GLM) procedure. Međusobni utjecaj grupa je izračunat pomoću Tukey-Kramer HSD testa (SAS 9.4.), a opisni statistički parametri su utvrđeni primjenom MEANS procedure (SAS 9.4.).

5. Rezultati istraživanja i rasprava

5.1. Utvrđivanje pH vrijednosti mlijeka

Rezultati početnog mjerenja za 37 uzoraka podijeljenih u tri podskupine (A, B i C) prema količini dodatka NaHCO_3 su prikazani u Tablici 3. Srednje pH vrijednosti za uzorke u koje nije dodavana NaHCO_3 1. dana su iznosile u prosjeku 6,77 (A), 6,75 (B) i 6,76 (C), što je neznatno više od vrijednosti propisanih Pravilnikom o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (NN 136/20). Uzorci ostavljeni na sobnoj temperaturi (25°C) u trajanju od 24 sata su se zakiselili prirodnim putem te su izmjerene pH vrijednosti uzoraka bile niže nego 1. dana. Iznosile su 6,64 (A), 6,60 (B) i 6,59 (C). Dodavanjem NaHCO_3 u uzorke mlijeka, podskupina C (50 mg), podskupina B (100 mg) i podskupina A (150 mg), došlo je do povećanja pH vrijednosti odnosno snižavanja kiselosti. U uzorke su dodane različite količine NaHCO_3 pa dolazi i do različitih promjena pH vrijednosti kao što je vidljivo u Tablici 3.

Tablica 3. Srednje vrijednosti i standardna devijacija pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

	Dodatak NaHCO_3 (mg/50mL)	pH Podskupina A (n=16)	pH Podskupina B (n=11)	pH Podskupina C (n=10)
Svježe mlijeko	-	$6,77 \pm 0,02$	$6,75 \pm 0,05$	$6,76 \pm 0,02$
Mlijeko nakon 24h	-	$6,64 \pm 0,04$	$6,60 \pm 0,03$	$6,59 \pm 0,02$
Mlijeko 24h nakon dodatka	50	-	-	$6,82^c \pm 0,09$
Mlijeko 24h nakon dodatka	100	-	$6,92^b \pm 0,09$	-
Mlijeko 24h nakon dodatka	150	$7,02^a \pm 0,07$	-	-

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (\pm SD) za svaku podskupinu
n = broj uzoraka

Vrijednosti označene različitim oznakama a, b i c su značajno različite ($P < 0,05$)

U Tablici 4 su prikazane srednje pH vrijednosti i standardne devijacije prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 . Prvog dana je prosječna pH vrijednost iznosila 6,66, dok je drugog dana

iznosila 6,53. Nakon dodavanja NaHCO₃ pH vrijednost se povećala na 6,81 što je sukladno očekivanjima nakon dodatka Na-bikarbonata.

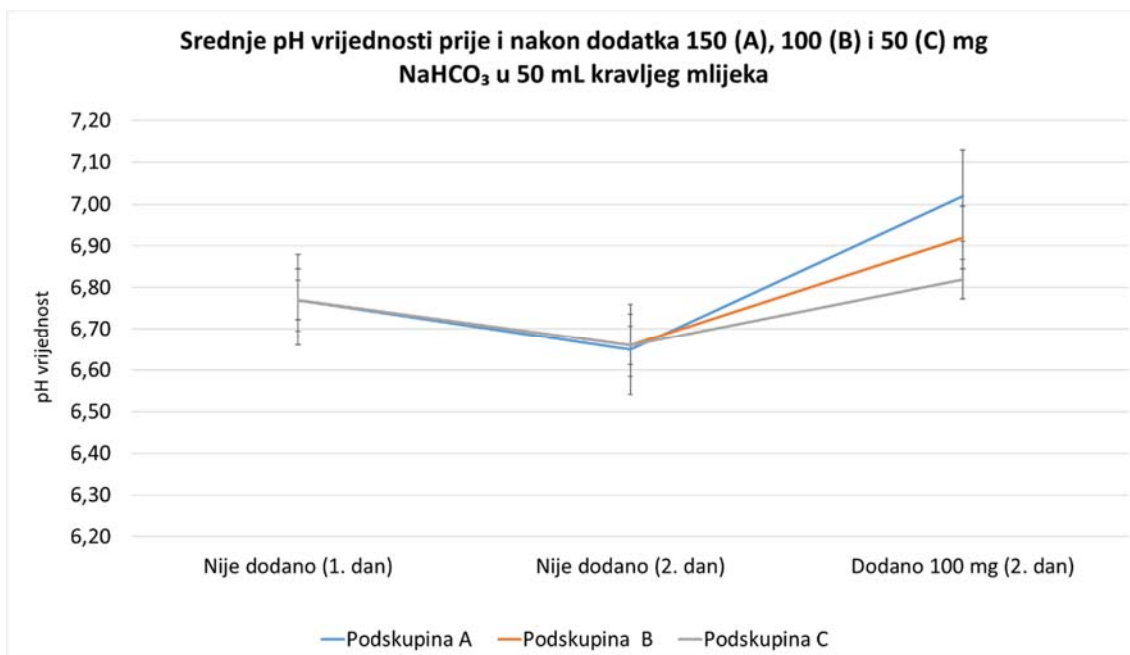
Statističkom obradom su utvrđene statistički značajne razlike ($P < 0,05$) između pH vrijednosti svih triju podskupina (A, B i C) nakon dodavanja NaHCO₃ čime se može zaključiti da su sve dodane koncentracije (150, 100 i 50 mg) značajno utjecale na promjenu odnosno povećanje pH vrijednosti.

Tablica 4. Srednje pH vrijednosti i standardne devijacije prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka

	pH bez dodatka NaHCO ₃	pH 100 mg NaHCO ₃
Svježe mlijeko	6,66 ± 0,12	-
Mlijeko nakon 24h	6,53 ± 0,21	6,81 ± 0,16

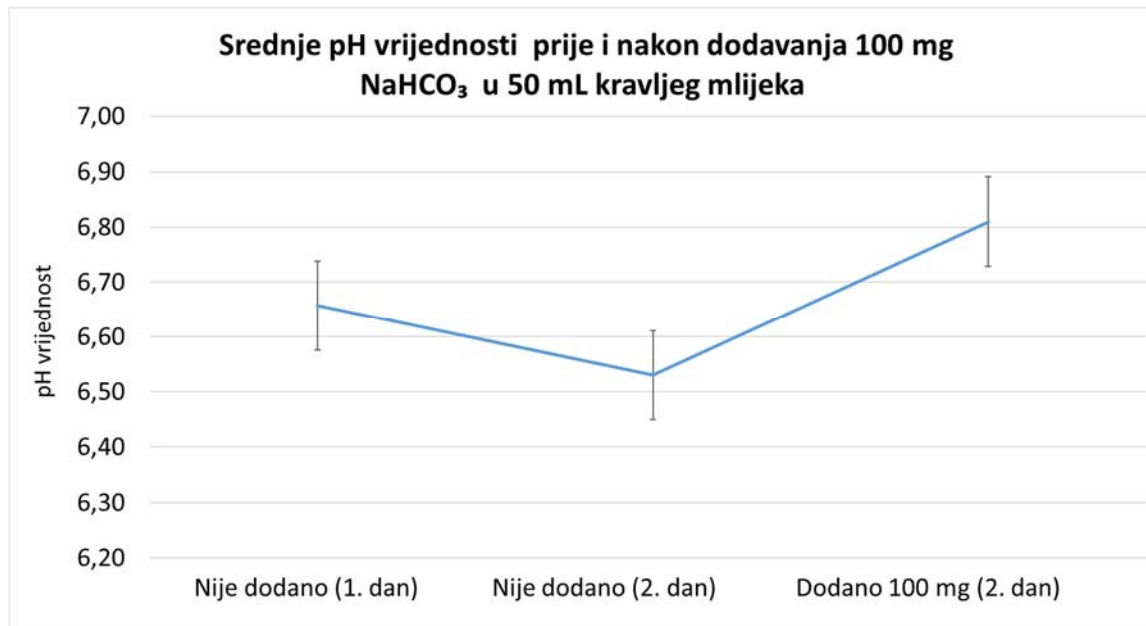
Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (± SD) za 25 uzoraka

Na Grafikonu 4 su prikazane srednje pH vrijednosti svih grupa uzoraka (A, B i C) od 1. do 2. dana. Uočeno je povećanje pH vrijednosti u podskupini uzoraka s većom količinom dodavanja što je bilo za očekivati. Podskupina A ima najvišu pH vrijednost, zatim podskupina B te podskupina C. Uz dodatak NaHCO₃, pH vrijednost svim uzorcima se povećala.



Grafikon 4. Srednje pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 50 mg (C), 100 mg (B) i 150 mg (A) NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka.

U Grafikonu 5 su prikazane srednje pH vrijednosti prije i nakon dodatka 100 mg NaHCO_3 . Kretanje pH vrijednosti je slično vrijednostima prikazanim u grafikonu 4 jer se pH prirodno smanjuje od 1. do 2. dana i povećava nakon dodavanja NaHCO_3 .



Grafikon 5. Srednje pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

5.2. Utvrđivanje NaHCO_3 prije i nakon dodavanja u mlijeko

Uzorci su analizirani na instrumentu Milkoscan FT3 prije i nakon dodavanja NaHCO_3 . U Tablici 5 prikazani su očitani prosječni maseni udjeli NaHCO_3 . Prosječni postotak NaHCO_3 nakon dodavanja iznosi 0,287 za podskupinu A, 0,177 za podskupinu B i 0,077 za podskupinu C. Uspoređujući očitane rezultate analiza uočava se jasna razlika između podskupina uslijed različitih količina dodanog Na - bikarbonata.

Tablica 5. Srednje vrijednosti i standardne devijacije NaHCO₃ prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka

	Dodatak NaHCO ₃ (mg/50mL)	Udio NaHCO ₃ Podskupina A (n=16)	Udio NaHCO ₃ Podskupina B (n=11)	Udio NaHCO ₃ Podskupina C (n=10)
Svježe mlijeko	-	- 0,006 ± 0,003	- 0,005 ± 0,003	- 0,005 ± 0,003
Mlijeko nakon dodatka	50	-	-	0,077 ± 0,004
Mlijeko nakon dodatka	100	-	0,177 ± 0,011	-
Mlijeko nakon dodatka	150	0,287 ± 0,008	-	-

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (± SD) za svaku podskupinu n = broj uzoraka

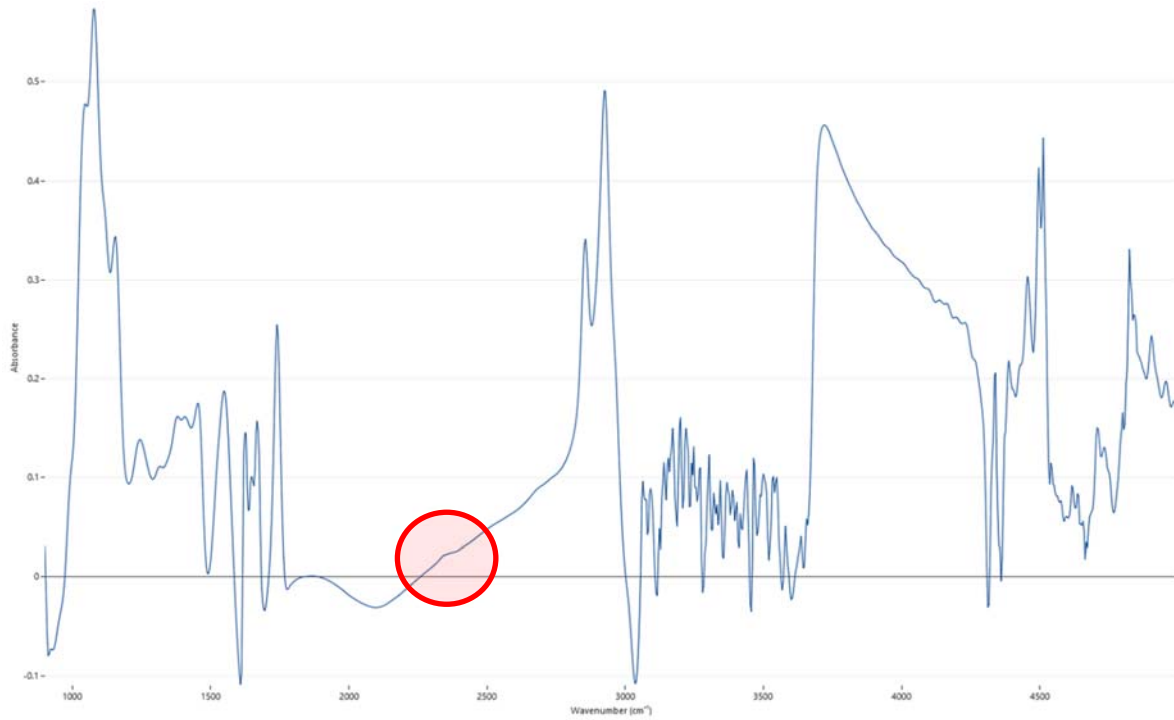
Tablica 6. Srednje vrijednosti i standardne devijacije NaHCO₃ prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka

	bez dodatka NaHCO ₃	100 mg NaHCO ₃
Udio NaHCO ₃	0,006 ± 0,02	0,170 ± 0,04

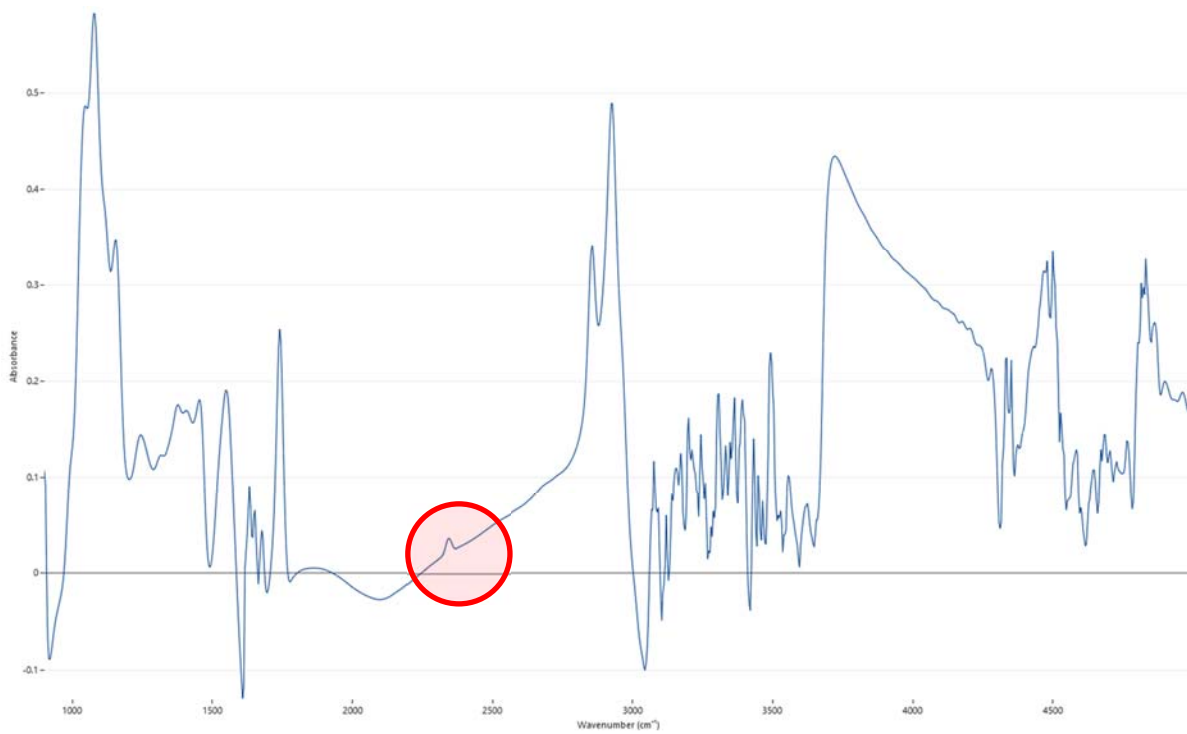
Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (± SD) za 25 uzoraka

Pregledom spektara dobivenih infracrvenom spektrofotometrijskom metodom vidljive su promjene na valnoj duljini između 2300-2500 cm⁻¹. Na grafikonima (6, 7, 8 i 9) se može uočiti da u uzorcima s dodanim NaHCO₃ dolazi do pojave spektrofotometrijskog vrha (pika) u području navedenih valnih duljina, a povećanjem količine dodavanja NaHCO₃ (50, 100 i 150 mg) kromatografski vrh bilježi porast. S obzirom da se te promjene ne uočavaju u nepatvorenom mlijeku, za pretpostaviti je da se radi o apsorbanciji tvari prisutnih u Na-bikarbonatu. Conceicao i sur. (2019) navode pojavu apsorbancije NaHCO₃ na 1100-1250 cm⁻¹, dok su Joshi i sur. (2013) očitili dva pika na valnim duljinama između 1000 i 1923 cm⁻¹. Uočene promjene na spektrima su na slikama zaokružene crvenim kružnim oblikom. Uspoređeni su prosječni spektri uzoraka mlijeka prije dodavanja NaHCO₃ (Grafikon 6) sa spektrom nasumično odabranog uzorka nakon dodavanja 50 mg NaHCO₃ (Grafikon 7), zatim nakon dodavanja 100 mg (Grafikon 8) i nakon 150 mg dodanog NaHCO₃ (Grafikon 9). Uočene promjene na

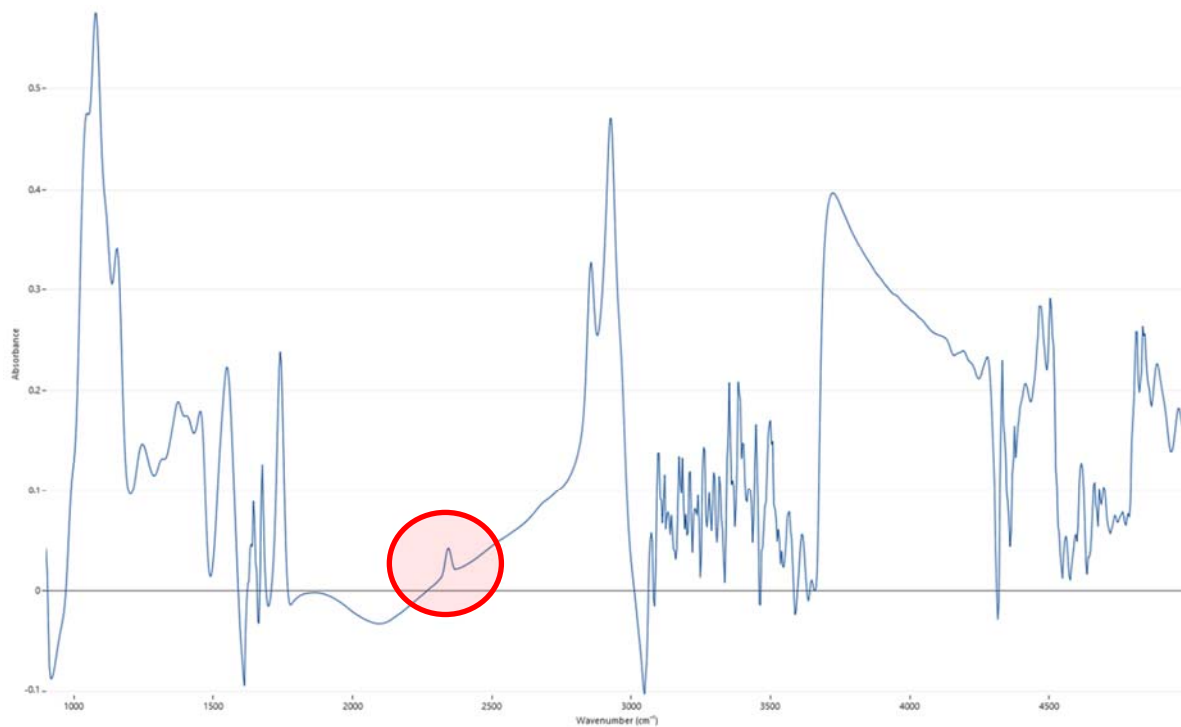
spektralnim krivuljama ukazuju na potrebu dodatnog istraživanja detekcije NaHCO_3 na valnoj duljini između 2300 i 2400 cm^{-1} .



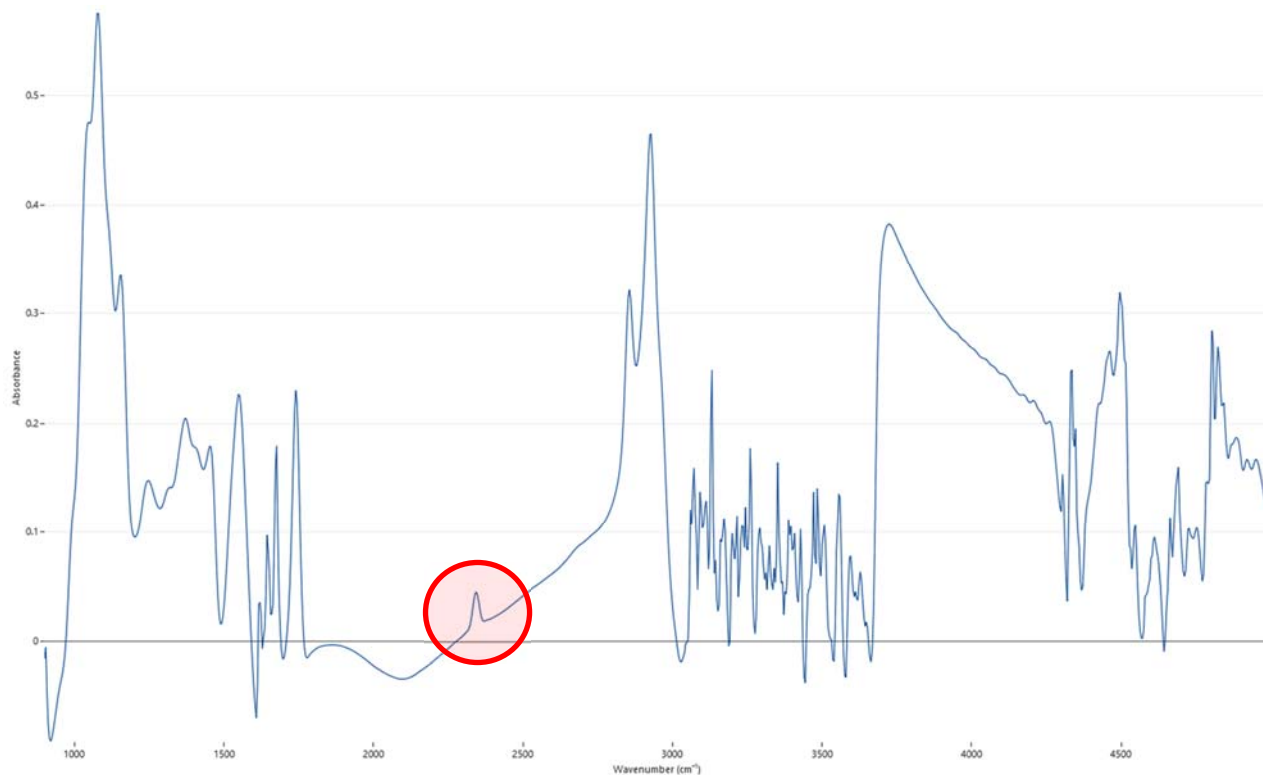
Grafikon 6. Prikaz spektra nasumičnog uzorka prije dodatka NaHCO_3



Grafikon 7. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 50 mg NaHCO_3



Grafikon 8. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 100 mg NaHCO₃



Grafikon 9. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 150 mg NaHCO₃

5.3. Utvrđivanje osnovnog kemijskog sastava mlijeka

Uz promjenu pH vrijednosti mlijeka, također su se pratile promjene u sadržaju laktoze, suhe tvari i vrijednosti gustoći. Prema Antunac i Havranek (2013), prosječni kemijski sastav mlijeka glede suhe tvari je 13 % (11-14), laktoza 4,8 % (4, 6-4, 9) i gustoća sirovog mlijeka ne smije biti niža od 1, 028 g/cm³ pri 20°C.

Praćeni parametri prije i nakon dodatka NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka su prikazani prosječno po grupama u Tablici 7. Promatrajući srednje vrijednosti za laktozu, suhu tvar i gustoću uočeno je povećanje masenih udjela nakon dodavanja NaHCO₃. Laktoze je nakon dodavanja u usporedbi na prije dodavanja, više za 9 % u podskupinu A, dok je u podskupini B porast za 6%. Podskupina C ima porast laktoze za 2 %. Sadržaj suhe tvari i gustoće je također u porastu nakon dodavanja NaHCO₃ što je i očekivano s obzirom na dodavanje Na-bikarbonata. Za suhu tvar su prosječni porasti 1-2 % za sve tri podskupine uzoraka, dok je porast gustoće prosječno 1 %.

Tablica 7. Srednje vrijednosti i standarde devijacije parametara (laktoza, suha tvar, gustoća) prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka

	Dodatak NaHCO ₃ (mg/50mL)	Podskupina A (n=16)	Podskupina B (n=11)	Podskupina C (n=10)
Laktoza (%)	-	4,63 ± 0,06	4,64 ± 0,07	4,63 ± 0,07
Suha tvar (%)	-	12,92 ± 0,16	12,95 ± 0,17	12,93 ± 0,17
Gustoća (g/cm ³)	-	1030,15 ± 0,20	1030,18 ± 0,21	1030,16 ± 0,21
Laktoza (%)	50	5,08 ± 0,09	4,90 ± 0,08	4,74 ± 0,09
Suha tvar (%)	100	13,15 ± 0,24	13,05 ± 0,21	12,96 ± 0,22
Gustoća (g/cm ³)	150	1037,53 ± 0,36	1037,53 ± 0,31	1033,67 ± 0,12

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (± SD) za svaku podskupinu n = broj uzoraka

U Tablici 8 prikazane su srednje vrijednosti i standardna devijacija prije i nakon dodavanja NaHCO₃. Laktoza je u porastu za 5 % nakon dodavanja NaHCO₃, suha tvar za < 1 %, a gustoća za oko 1 %.

Tablica 8. Srednje vrijednosti i standardne devijacije parametara (laktoza, suha tvar, gustoća) prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO₃ u 50 mL kravljeg mlijeka

	Svježe mlijeko	100 mg NaHCO ₃
Laktoza (%)	4,42 ± 0,37	4,64 ± 0,38
Suha tvar (%)	13,09 ± 1,86	13,13 ± 1,77
Gustoća (g/cm ³)	1029,12 ± 1,87	1036,27 ± 1,68

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (± SD) za 25 uzoraka

Zbog porasta praćenih parametara (laktoza, suha tvar, gustoća) u postotku nakon dodavanja može se pretpostaviti da se u mlijeku NaHCO₃ rastapa i veže na te komponente, ali za točnije rezultate su potrebna daljnja istraživanja. Coitinho i sur. (2017) su prikazali rezultate sa 100 % osjetljivosti otkrivanja jednog od dodavanja u mlijeko odnosno NaHCO₃ pomoću instrumenta Milkoscan FT1.

6. Zaključak

Patvorenje mlijeka dodavanjem raznih tvari dovodi do umanjene prehrambene kvalitete i povećane opasnosti za zdravlje. Na temelju rezultata analiza može se zaključiti da je MID-infracrvena FTIR spektrofotometrijska metoda prikladna metoda, koja se primarno koristi za određivanje kemijskog sastava mlijeka, za detekciju i dodatak Na-bikarbonata. Rezultatima ovog istraživačkog diplomskog rada se uvidjelo da se dodatkom NaHCO_3 može kratkotrajno očuvati odnosno neutralizirati kiselost mlijeka, a dodavanje se može dokazati analizom na instrumentu Milkoscan FT3 (*FOSS Electric, Danska*). Dobiveni rezultati uz dobivene spektrofotometrijske vrhove na valnoj duljini između 2300 i 2500 cm^{-1} upućuju na potrebu za dodatnim istraživanjem na većem uzorku kako bi se potvrdilo navedenu valnu duljinu kao referentnu za dokazivanje patvorenja mlijeka Na-bikarbonatom. Uz ciljane modele AN5488 metoda je prikladna za brzo određivanje različitih tvari koje se koriste za patvorenje mlijeka, što ima praktičan doprinos za korištenje ove metode u mljekarama.

7. Popis literature

1. Antunac, N., Havranek, J. (2013): Mlijeko - kemija, fizika i mikrobiologija, Sveučilišni udžbenik, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb.
2. Azad, T., Ahmed, S. (2016): *Common milk adulteration and their detection techniques*. *Food Contamination*, 3 (22), Doi. <https://doi.org/10.1186/s40550-016-0045-3>
3. Ayza, A., Belete, E. (2015): *Food Adulteration: Its Challenges and Impacts*, Review, *Food Science and Quality Management*, Vol. 41, 2225-0557 (Online), Ethiopia.
4. Banti, M. (2020): *Food Adulteration and Some Methods of Detection*. Review, *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 9 (3), 86-94, Doi. [10.11648/j.ijnfs.20200903.13](https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20200903.13)
5. Coitinho, T.B., Cassoli, L.D., Cerqueira, P.H.R., Da Silca, H.K., Cointinho, J.B., Machado P.F. (2017): *Adulteration identification in raw milk using Fourier transform infrared spectroscopy*. *Association of Food Scientists & Technologists*, 54 (8), 2394–2402, India, Doi. [10.1007/s13197-017-2680-y](https://doi.org/10.1007/s13197-017-2680-y)
6. Conceicao, G.D., Goncalves Ben-Hur, R.F., Da Hora, F.F., Faliero, A.S., Santos, L.S., Ferrao, S.P.B., (2019): *Use of FTIR-ATR Spectroscopy Combined with Multivariate Analysis as a Screening Tool to Identify Adulterants in Raw Milk*, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30 (4), 780-785, Brazil, Doi. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180208>
7. Damjanović, S., Samaržija, D., Havranek, J. (2006): Metode za dokazivanje patvorenja mlijeka i sira drugim vrstama mlijeka, Pregledni rad, *Mljekarstvo* 56 (3), 221-232.
8. Das, S., Closwami, B., Biswas, K., (2016): *Milk Adulteration and Detection*, A Review, *Sensor Letters*, 14 (1), 4-18, India, Doi. [10.1166/sl.2016.3580](https://doi.org/10.1166/sl.2016.3580)
9. De Marchi, M., Toffanin, V., Cassandro, M., Penasa, M. (2014): *Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits*, Invited review, *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1171-86, Doi. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6799>
10. FOSS – Milkoscan FT3
<https://www.fossanalytics.com/de-de/products/milkoscan-ft3>
11. Mađerić, S.(2016): FT-IR analiza polimernih materijala, Završni rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split.

12. MilkoScan FT3, Application Note (AN 5488 Rev. 2), 2020., Milk Targeted Adulteration Screening Models, FOSS Eletric, Danska.
13. Milkoscan FT1 (AN 5394 Rev. 1) Subject: Processed Milk Untargeted Adulteration Screening
14. Milkoscan FT1, Application Note (AN 0700 Rev. 3) Subject: Raw Milk Untargeted Adulteration Screening
15. Milkoscan FT1, Application Note (AN 0071 Rev. 5) Targeted Adulterant Models for Raw Cows Milk
16. Moore, J.C., Spink, J., Lipp, M. (2012): *Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010*, Journal of Food Science, 77 (4), 118–126, Doi. 10.1111/j.1750-3841.2012.02657.x
17. Handford, C.E., Campbell, K., Elliot, C.T. (2016): Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Journal Citation Reports , 130-142.
18. Johnson, R. (2014): *Food Fraud and „Economically Motivated Adulteration“ of Food and Food ingredient*, Congressional Research Service.
19. Joshi, S., Kalyanasundaram, S., Balasubramanian, V. (2013): *Quantitative Analysis of Sodium Carbonate and Sodium Bicarbonate in Solid Mixtures Using Fourirer Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)*. Article in Applied Spectroscopy, 67 (8), 841-845, India.
20. Kittivachra, R., Sanguandeeul, R., Sakulbumrungsil, R., Phongphanphanee, P., Srisomboon, J. (2006): *Determination Of Essential Nutrients In Raw Milk*. Songklanakarinn Journal Of Science And Technology, 28 (1), 115-120.
21. Kartheek, M., Smith, A.A., Muthu, A.K., Manavalan, R. (2011): Determination of adulterants in food. A review. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 3 (2), 629–636.
22. Lynch, J.M., Barbano, D.M., Schweisthal, M., Flemingt, J.R. (2006): *Precalibration Evaluation Procedures for Mid-infrared Mik Analyzers*, Journal of Dairy Science, Doi. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72353-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72353-0)
23. Matijević, B., Blažić, M. (2008): Primjena spektroskopskih tehnika i kemometrijskih metoda u tehnologiji mlijeka, Pregledni rad, Mljekarstvo, 58 (2) 151-169.

24. Poonia, A., Jha, A., Sharma, R., Singh, H.B., Rai, A.K., Sharma, N. (2017): *Detection of adulteration in milk*, A review, International Journal of Dairy Technology, 70, 23- 42., Doi. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12274>
25. Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2020). Narodne novine broj 136. Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb.
26. Rahman, M.M., Islam, N., Rašid, H., Masum, A. (2018): *Effects of sodium bicarbonate on milk preservation*, Research in Agriculture Livestock and Fisheries, 5(1), 75–85, Doi. [10.3329/ralf.v5i1.36555](https://doi.org/10.3329/ralf.v5i1.36555)
27. Samaržija, D. (2015): Fermentirana mlijeka, Udžbenik, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
28. Spink, J., Moyer, D.C. (2011): *Defining the Public Health Threat of Food Fraud*. Journal of Food Science, Doi. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x>
29. Škorić, I. (2016): Molekulska spektroskopija. Nastavni tekst https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Nastavni_tekst_Molekulska_spektroskopija.pdf
30. Škrinjar, D. (1984): Patvorenje sirovog mlijeka dodavanjem vode. Mljekarstvo, 34 (8), 242-248
31. Tibola, C.S., Alves de Silva, S., Dossa A.A., Patricio, D.I. (2018): *Economically Motivated Food Fraud and Adulteration in Brazil: Incident san Alternatives to Minimize Occurrence*, Journal of Food Science, 83 (8), 2028-2038, Doi. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14279>
32. Zorić, L. (2019.): Utvrđivanje patvorenja konzumnog mlijeka dodatkom mlijeka u prahu modificiranom spektrofotometrijskom metodom, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
33. https://hr.wikipedia.org/wiki/Natrijev_hidrogenkarbonat, Pristupljeno: srpanj 2021.

8. Popis tablica, slika i grafikona

8.1. Popis tablica

Tablica 1. Prikazani dodaci u mlijeku i rizik za zdravlje potrošača

Tablica 2. Parametri i određene granice detekcije

Tablica 3. Srednje pH vrijednosti i standardne devijacije pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Tablica 4. Srednje pH vrijednosti i standardne devijacije prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Tablica 5. Srednje vrijednosti i standardne devijacije NaHCO_3 prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Tablica 6. Srednje vrijednosti i standardne devijacije NaHCO_3 prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Tablica 7. Srednje vrijednosti i standardne devijacije parametara prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Tablica 8. Srednje vrijednosti i standardne devijacije parametara prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

8.2. Popis slika

Slika 1. Milkoscan FT3

Slika 2. Mjerenje pH vrijednosti

Slika 3. Na – bikarbonat (NaHCO_3)

8.3. Popis grafikona

Grafikon 1. Primjer rezultata ne-ciljanog modela

Grafikon 2. Primjer grafa s granicom detekcije

Grafikon 3. Prikaz rezultata povećane količine natrijevog bikarbonata

Grafikon 4. Srednje pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 150 (A), 100 (B) i 50 (C) mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Grafikon 5. Srednje pH vrijednosti prije i nakon dodavanja 100 mg NaHCO_3 u 50 mL kravljeg mlijeka

Grafikon 6. Prikaz spektra za nasumični uzorak prije dodatka NaHCO_3

Grafikon 7. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 50 mg NaHCO_3

Grafikon 8. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 100 mg NaHCO_3

Grafikon 9. Prikaz spektra nasumičnog uzorka s dodatkom 50 mg NaHCO_3

Prilozi

Prilog 1. Tablica svih vrijednosti očitavanja (podskupine A, B i C)

Uzorak/ parametar	Prije dodatka NaHCO ₃ u 50 mL kravljeg mlijeka						Nakon dodatka NaHCO ₃ u 50 mL kravljeg mlijeka					
	pH 1. dana	pH 2. dana	Laktoza (%)	Suha tvar (%)	Gustoća (g/cm ³)	NaHCO ₃	dodano NaHCO ₃	pH 2. dana	Laktoza (%)	Suha tvar (%)	Gustoća (g/cm ³)	NaHCO ₃
A1	6,73	6,57	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,94	4,96	12,95	1041,1 0	0,280
A2	6,74	6,60	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,94	4,99	12,82	1041,6 0	0,289
A3	6,75	6,59	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,93	4,97	12,96	1041,4 0	0,288
A4	6,75	6,61	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,95	4,98	12,95	1041,3 0	0,286
A5	6,74	6,60	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,93	4,96	12,79	1040,8 0	0,263
A6	6,75	6,59	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,95	4,98	12,92	1041,5 0	0,287
A7	6,75	6,58	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		6,95	5,00	12,93	1041,8 0	0,291
A8	6,77	6,67	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003	150 mg	7,00	5,15	13,35	1041,9 0	0,292
A9	6,78	6,68	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		7,05	5,16	13,23	1042,0 0	0,294
A10	6,77	6,67	4,58	12,8	1030,0 0	-0,003		7,04	5,15	13,41	1041,8 0	0,291
A11	6,80	6,67	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		7,05	5,15	13,30	1041,8 0	0,289
A12	6,78	6,69	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		7,04	5,13	13,44	1041,5 0	0,279
A13	6,80	6,67	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		7,06	5,17	13,26	1041,2 0	0,290
A14	6,77	6,66	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		7,05	5,14	13,41	1041,8 0	0,287
A15	6,79	6,65	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		7,05	5,16	13,27	1042,1 0	0,297
A16	6,78	6,68	4,71	12,80	1030,4 0	-0,008	7,06	5,15	13,44	1041,9 0	0,289	
B1	6,75	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,87	4,84	12,91	1037,5 0	0,181
B2	6,75	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,86	4,83	12,87	1037,4 0	0,180
B3	6,75	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,86	4,83	12,88	1037,6 0	0,183
B4	6,75	6,60	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,89	4,86	12,89	1038,2 0	0,204
B5	6,75	6,59	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,89	4,83	12,87	1037,4 0	0,180
B6	6,73	6,58	4,58	13,12	1030,0 0	-0,003	100 mg	6,85	4,81	12,83	1037,2 0	0,176
B7	6,78	6,58	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,68	4,98	13,33	1038,3 0	0,164
B8	6,76	6,67	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,88	5,00	13,31	1037,7 0	0,175
B9	6,77	6,60	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,86	4,96	13,34	1037,1 0	0,163
B10	6,80	6,61	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,89	5,01	13,20	1037,8 0	0,172
B11	6,61	6,61	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,88	4,99	13,08	1037,6 0	0,166
C1	6,75	6,59	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,76	4,68	12,74	1037,6 0	0,083

C2	6,75	6,59	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003	50 mg	6,75	4,68	12,86	1037,6 0	0,077
C3	6,73	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,75	4,67	12,83	1037,8 0	0,078
C4	6,74	6,56	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,71	4,65	12,84	1033,7 0	0,078
C5	6,75	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,73	4,67	12,85	1033,5 0	0,079
C6	6,77	6,58	4,58	12,80	1030,0 0	-0,003		6,74	4,69	12,84	1033,6 0	0,081
C7	6,79	6,60	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,74	4,85	12,84	1033,7 0	0,069
C8	6,76	6,62	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,76	4,85	13,33	1033,7 0	0,072
C9	6,77	6,61	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,75	4,85	13,18	1033,9 0	0,074
C10	6,77	6,61	4,71	13,12	1030,4 0	-0,008		6,76	4,84	13,31	1033,6 0	0,074

Prilog 2. Tablica svih očitavanja (25 uzoraka)

Uzorak	Prije dodatka NaHCO ₃					Nakon dodatka 100 mg NaHCO ₃					
	pH 1. dana	pH 2. dana	Laktoza (%)	Suha tvar (%)	Gustoća (g/cm ³)	NaHCO ₃	pH 2. dana	Laktoza (%)	Suha tvar (%)	Gustoća (g/cm ³)	NaHCO ₃
1	6,63	6,37	4,62	12,88	1030,60	-0,002	6,65	4,73	13,19	1037,30	0,144
2	6,67	6,56	4,61	12,01	1031,00	0,001	6,81	4,81	12,24	1038,10	0,174
3	6,52	6,10	4,42	14,25	1030,50	-0,017	6,50	4,47	14,56	1036,50	0,108
4	6,67	6,64	4,55	13,26	1029,50	0,000	6,87	4,81	13,03	1037,20	0,177
5	6,67	6,56	4,50	13,50	1029,60	0,001	6,91	4,77	13,63	1037,10	0,189
6	6,68	6,10	4,49	12,28	1028,80	-0,001	6,77	4,69	12,42	1036,10	0,185
7	6,67	6,64	4,64	12,40	1030,60	-0,029	6,91	4,89	12,59	1038,10	0,183
8	6,60	6,56	4,54	13,32	1030,50	0,001	6,48	4,55	13,64	1036,50	0,121
9	6,70	6,48	4,52	13,08	1027,10	0,003	6,48	4,76	13,20	1036,50	0,179
10	6,59	6,62	4,23	12,87	1026,70	-0,006	6,89	4,41	12,80	1033,30	0,137
11	6,70	6,12	4,54	14,15	1028,40	-0,027	6,75	4,82	14,22	1036,00	0,197
12	6,66	6,63	4,61	13,05	1029,40	-0,003	6,95	4,89	13,04	1037,10	0,190
13	6,65	6,42	4,63	12,44	1030,90	-0,003	6,90	4,91	12,53	1038,30	0,189
14	6,63	6,69	4,17	13,22	1025,20	-0,050	6,92	4,42	13,02	1032,10	0,142
15	6,66	6,64	4,50	13,48	1029,50	-0,002	6,76	4,76	13,59	1036,90	0,182
16	6,67	6,66	4,66	12,55	1030,90	0,002	6,89	4,94	12,65	1038,20	0,194
17	6,38	6,49	3,44	20,69	1031,50	0,003	6,94	3,74	20,26	1035,40	0,097
18	6,71	6,67	4,75	12,74	1030,90	-0,009	6,65	5,03	12,87	1038,00	0,181
19	6,77	6,72	4,60	12,41	1029,80	0,002	6,91	4,88	12,56	1036,40	0,197
20	6,76	6,34	4,54	12,85	1029,00	0,003	6,98	4,82	12,85	1036,70	0,197
21	6,60	6,69	4,79	11,52	1029,20	-0,009	6,76	5,00	11,60	1036,20	0,155
22	6,74	6,74	4,54	13,06	1028,50	0,002	6,96	4,80	13,22	1036,00	0,189
23	7,05	6,86	3,41	9,62	1025,30	0,053	7,05	3,62	9,78	1033,70	0,254
24	6,41	6,31	3,62	14,27	1026,10	-0,055	6,60	3,82	13,46	1032,80	0,104
25	6,64	6,64	4,47	11,32	1028,40	0,004	6,90	4,75	11,21	1036,20	0,196

Životopis

Kristina Škof rođena je 10. svibnja 1997. godine u Zaboku. Osnovnu školu završila je u Zlataru, kao i srednjoškolsko obrazovanje Opće gimnazije Zlatar. Godine 2016. upisuje preddiplomski (Bs) studij Animalne znanosti Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Diplomom sveučilišna prvostupnica inženjerka agronomije stekla je 2019. godine, a fakultetsko obrazovanje nastavlja na diplomskom (Ms) studiju Proizvodnja i prerada mlijeka. Stručnu praksu odradila je u sirani Vesna Lobarika, gdje se proizvodnja temelji na tradicionalnim sirevima, uz primjenu suvremenih metoda sirarske tehnologije. Svestrana i znatiželjna je kroz studiranje radila razne studentske poslove, između ostalih u mliječnoj industriji Dukat u Zagrebu,