

(19) DANMARK



Patentdirektoratet  
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 166289 B

- 
- |                                                                                          |               |               |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
| (21) Patentansøgning nr.: 4596/84                                                        | (51) Int.Cl.5 | C 12 Q 1/04   |
| (22) Indleveringsdag: 26 sep 1984                                                        |               | A 23 C 3/08   |
| (24) Løbedag: 29 dec 1983                                                                |               | A 23 L 3/3463 |
|                                                                                          |               | C 12 Q 1/22   |
| (41) Alm. tilgængelig: 26 sep 1984                                                       |               |               |
| (44) Fremlagt: 29 mar 1993                                                               |               |               |
| (86) International ansøgning nr.: PCT/US83/02071                                         |               |               |
| (86) International indleveringsdag: 29 dec 1983                                          |               |               |
| (85) Videreførelsesdag: 26 sep 1984                                                      |               |               |
| (30) Prioritet: 28 jan 1983 US 461721                                                    |               |               |
| (71) Ansøger: *DAIRY AND FOOD LABS INC.; 1750 Folsom Street; San Francisco; CA 94103, US |               |               |
| (72) Opfinder: Randall S. *Young; US, Ronald D. *Fredericks Jr.; US                      |               |               |

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) **Konserveringsmiddel for mælkeprøver, hvis sammensætning skal undersøges, og fremgangsmåde til undersøgelse af mælkeprøver, under anvendelse af konserveringsmidlet**

(56) Fremdragne publikationer

FR pat. nr. 1084995  
GB pat. nr. 360360  
Andre publikationer: Milchwissenschaft, vol. 36, nr. 2 (1981),  
s. 65-68N, Hydrogen Ions Their Determination  
and Importance in pure and Industrial  
Chemistry, 1956, s. 340-348.

(57) Sammendrag:

4596-84

Konserveringsmiddel med en pH-følsom farveindikator anvendes til behandling af mælkeprøver inden disses laboratorieundersøgelse. Farveindikatoren er følsom inden for et specielt pH-område og har relation til den bakterielle nedbrydning af prøven. Inden laboratorieundersøgelsen kan nedbrudte prøver frasorteres ud fra deres farve.

DK 166289 B

Den foreliggende opfindelse angår et konserveringsmiddel beregnet til at sættes til en mælkeprøve, medens den er frisk, inden den sendes til undersøgelse på et laboratorium, idet konserveringsmidlet omfatter en forbindelse  
5 der hæmmer bakteriel nedbrydning af mælken. Herudover angår opfindelsen en fremgangsmåde til laboratorieundersøgelse af mælkeprøver for bakteriel nedbrydning under anvendelse af konserveringsmidlet. Et konserveringsmiddel af denne type er bl.a. beskrevet i Milchwissenschaft 36  
10 (2) 1981 side 65-68.

Det er almindeligt inden for mejeribruget at sende prøver af forskellige mejeriprodukter til centrallaboratorier for undersøgelse. Typiske undersøgelser omfatter bestemmelse af fedtindhold, proteinindhold, indhold af lactose,  
15 tørstofbestemmelse og bestemmelse af tilsat vand. Yderligere kan prøverne underkastes direkte mikroskopisk somatisk celletælling (DMSCC), der måler indholdet af epithelceller fra kvæg, og som tjener som indikation på  
20 yverinfektion.

Forsøgsprøverne kan være undervejs i en eller flere dage mellem gården med malkebesætningen og det centrale undersøgelseslaboratorium, og selv om de er afkølet, sker der  
25 forskellige former for bakteriel nedbrydning.

Den mest almindelige form for bakteriel nedbrydning skyldes væksten af mælkesyrebakterier, specielt streptococcer og lactobaciller. Disse bakterier findes i rå mælk og  
30 bruger lactose til at frembringe mælkesyre. Deres evne til at frembringe syre og formere sig ved lave pH-værdier favoriserer deres overlevelse i forhold til andre almindelige organismer i mælk og andre mejeriprodukter. Efterhånden som mælkens pH sænkes, begynder caseinet, der er  
35 det vigtigste mælkeprotein med et isoelektrisk punkt på pH 4,6, at udfælde. Udfældningen ses først som en meget fin kornethed ved pH på ca. 5,2 (frisk mælk har en pH på

6,7). Mælken danner en fast gel ved en pH-værdi på ca. 4,6 - 4,7.

En anden form for bakteriel nedbrydning forårsages af proteolytiske mikroorganismer, der enzymatisk denaturerer mælkeproteinet. Proteolysen er ledsaget af syreproduktion, når den er forårsaget af visse arter af mikrooccer og (i mindre udstrækning) af arter af Bacillus og andre grupper. Denne proteolytiske nedbrydning vil være dominerende under betingelser, der er uheldige for væksten af mælkesyrebakterier.

Den bakterielle nedbrydning af en mejeriprøve inden undersøgelse er uønsket af to afgørende grunde. For det første kan en sådan nedbrydning direkte påvirke prøvens sammensætning. F.eks. kan mælkesyreomdannelsen reducere lactosebestemmelsen, medens proteinudfældningen kan sænke det målte proteinindhold. Kraftig vækst af proteolytiske og lipolytiske bakterier kan også sænke protein- og fedtbestemmelserne ved at denaturere disse komponenter.

For det andet og måske vigtigere kan tilstedeværelsen af selv små mængder udfældet protein tilstoppe måleudstyret. Et sådant måleudstyr er typisk automatiseret og bygger på overførsel af selve mælkeprøverne i snævre kapillarrør. Udfældet protein vil hurtigt tilstoppe disse rør, hvilket kræver, at måleudstyret slukkes, medens transportvejene renses. Da dette udstyr yderligere sædvanligvis måler lysabsorption gennem prøven, vil udfældet protein forøge den observerede lysabsorption, hvilket giver gale aflæsninger.

For at løse disse problemer i forbindelse med bakteriel nedbrydning af mælkeprøver, sættes konserveringsmidler (antibakterielle midler) sædvanligvis til prøverne på mejeriet. En hel række konserveringsmidler anvendes sædvanligvis herunder kaliumdichromat, borsyre og 2-brom-2-ni-

tropropan-1,3-diol. Selv om de sædvanligvis er effektive, kan de enkelte mælkeprøver stadig blive ødelagt af bakteriel nedbrydning, specielt dersom de har henstået en længere tid uden afkøling. Under sådanne omstændigheder er det svært for forsøgslaboratoriet at undgå, at nedbrudte prøver kommer i deres måleudstyr. Det er særdeles vanskeligt at afsløre tidlige stadier af nedbrydning, når kun en ringe del af proteinet er udfældet. En sådan begyndende udfældning kan imidlertid have indvirkning på målingerne og tilstoppe måleudstyret som beskrevet ovenfor.

Af ovennævnte grunde vil det være en fordel at have en undersøgelsesmetode, der vil muliggøre at laboratoriepersonalet let kan bestemme, om de enkelte mælkeprøver er nedbrudt, og om de er velegnede til undersøgelse på selve centrallaboratoriet.

Den foreliggende opfindelse tilvejebringer derfor et hidtil ukendt konserveringsmiddel, der er ejendommeligt ved det i krav 1's kendetegnende del angivne. Herudover tilvejebringer opfindelsen en fremgangsmåde til undersøgelse af mælkeprøver på et laboratorium, der er ejendommelig ved det i krav 6's kendetegnende del angivne.

Den foreliggende opfindelse er således bl.a. baseret på den erkendelse, at selv mælkeprøver, der er behandlet med konserveringsmidler for at forhindre bakterienedbrydning, kan blive udsat for bakteriel kontamination. Yderligere erkendes det, at sådanne prøver bliver uegnede til undersøgelse, når bakterier opbruger de bestanddele, der skal analyseres som f.eks. lactose og protein, og når de påvirker mælkeproteinet ved at forandre dets opløselighedsgrad. Hoveddelen af de mikroorganismer, der er i stand til at nedbryde mælk, udviser en eller anden grad af syreproduktion, og den foreliggende opfindelse bygger på afsløringen af begyndende syreproduktion som indika-

tion på, om den pågældende mælkeprøve er uacceptabelt nedbrudt.

5 Farveindikatoren er kombineret med et konserveringsmiddel der samtidigt sættes til mælkeprøven, medens den stadig er frisk, sædvanligvis på mejeriet.

10 Det omhandlede konserveringsmiddel med en farveindikator kan anvendes til alle flydende (ikke-fermenterede) mælkeprodukter, der antages at være uden mælkesyre. Disse produkter er typisk rå fuldmælk; homogeniseret mælk, herunder sødmælk, delvist skummetmælk og skummetmælk, fløde og lignende. Det omhandlede konserveringsmiddel kan ikke anvendes til mejeriprodukter, som f.eks. ost, hytteost og  
15 yoghurt, der er fermenteret, og hvor mælkesyre naturligt vil være til stede.

Konserveringsmidlet ifølge opfindelsen muliggør afsløring af bakteriel nedbrydning af en hvilken som helst bakterieart, der er i stand til at producere syre i mælk og  
20 mælkeprodukter. Som angivet ovenfor er de mest almindelige mikroorganismer streptococcer og lactobaciller, der omdanner lactose til mælkesyre. Visse Bacillus arter, der danner koagel, frembringer imidlertid også mælkesyre i  
25 tilstrækkelige mængder til at kunne afsløres ved hjælp af det omhandlede konserveringsmiddel. Andre almindelige mikroorganismer, der er ansvarlige for nedbrydningen af mælk, og som frembringer målelige mængder af syre, omfatter visse stammer af mikrococcer, mikrobakterier, pseudomonas arter og tarmbakterier. Visse af disse stammer er  
30 også proteolytiske og/eller lipolytiske.

Farveindikatoren, der udvælges til konserveringsmidlet er følsomt over for små mængder produceret syre i mælk, og  
35 det er muligt tidligt at afsløre potentielt nedbrydende mikroorganismer. Farveindikatoren bør udvise en synlig farveforandring inden for pH-området af frisk mælk og

mælk, der er ved at proteinudfælde. Yderligere bør farveindikatoren virke ved alle typer af syreproducerende nedbrydning, specielt den nedbrydning, der forårsages af mælkesyrebakterier og bakterier, der danner koagel. Medens det specielle farverespons på hver af disse ødelæggelsesformer kan variere, bør farveomslaget være reproducerbart for hver slags nedbrydning. På denne måde er det muligt for laboranten ud fra den observerede farveforandring at undersøge visuelt, om den pågældende prøve er velegnet til laboratorieundersøgelse. Prøver, der har et uacceptabelt bakterieniveau, der bevirker nedbrydning af prøven, kan således identificeres og fraskilles inden selve undersøgelsen.

Velegnede farveindikatorer vil udvise farveomslag inden for et pH-område fra ca. 6,7 (pH af frisk mælk) til ca. 4,6 (det isoelektriske punkt af casein). Farveomslaget bør være mest synligt inden for pH-området fra 6,1 til 5,1, hvor proteinudfældningen mest sandsynligt vil begynde. Proteinudfældning, som et resultat af mælkesyre dannelse af mælkesyrebakterier, begynder sædvanligvis ved en pH-værdi inden for ca. 5,1 til 5,2, medens udfældningen på grund af koageldannende bakterier er mere variabel og kan forekomme ved en pH-værdi så høj som ca. 5,9 til 6,7.

Farveindikatoren vil bekvemt give en stærk farvning af det friske mælkeprodukt som en indikation på, at konserveringsmidlet er tilsat. På denne måde kan tilfældig indtagelse af den konserverede mælkeprøve ved et uheld undgås.

Der findes velegnede indikatorforbindelser, der tidligere er blevet anvendt i forbindelse med undersøgelse af mælkeprøver som sådan. Der skal her henvises til engelsk patentskrift nr. 360 360, fransk patentskrift nr. 1 084 995 samt side 340-348 i "Hydrogen Ions - Their Determination and Importance in Pure and Industrial Chemistry" udgivet

1956 af Hubert T.S. Britton. Det engelske patentskrift omhandler kolorimetriske metoder, der foreslås til diagnosticering af yverlidelser, hvor mælken fra de enkelte pletter behandles med en indikator, hvorved man ved en farveændring kan konstatere ændring fra den normale tilstand (side 1, linie 56-62), og der foreslås en testvæske, der omfatter en indikator med farveomslag mellem pH = 6 og pH = 8 (side 1, linie 90 til side 2, linie 32), idet man fremhæver bromthymolblåt som en speciel velegnet indikator.

Fransk patentskrift nr. 1 084 995 omhandler et reagens, der muliggør påvisning af mælkesyremængden ved kolorimetri med bromthymolblåt (a) og bromcresolpurpur (b) (side 1, venstre kolonne) og accept af normal mælk i løbet af få sekunder.

I Hubert T.S. Brittons bog beskrives anvendelsen bromcresolpurpur til undersøgelse af mælk. Dersom 1 dråbe af en mættet vandig opløsning sættes til 3 cm<sup>3</sup> mælk, bliver normal frisk mælk grå-blålig. Mere alkalisk mælk f.eks. fra syge yvere eller fra mælk tilsat vand eller skummetmælk frembringer en mørkere farve og kræver derfor en nærmere undersøgelse. Mere sur mælk, enten på grund af udviklet surhed eller som er blevet opvarmet for meget ved pasteuriseringen, giver en lysere farve.

Cooledge (Michigan Agr. Exp. Station, Tech. Bull, 52 1921) anvender bromthymolblåt til undersøgelse af mælkeprøver og adskillelse af disse.

Passende indikatorforbindelser til anvendelse ved den foreliggende opfindelse omfatter bromcresolpurpur, chlorphenolrødt, nitrazingult og bromthymolblåt, der kan fås fra J.T. Baker Chemical Co. Phillipsburgh, N.J., som produkter med numrene henholdsvis C950, F334, R778 og D470. Kombinationer af farveindikatorer er også velegnede og

kan give forøget farveomslag inden for en bestemt del af pH-området.

5 Det omhandlede konserveringsmiddel er udvalgt til at være foreneligt med farveindikatorforbindelsen. Specielt bør konserveringsmidlet ikke gribe ind i farvningen eller farveomslaget frembragt med farveindikatorforbindelsen. Velegnede konserveringsmidler, der udviser ringe eller ingen farvning omfatter borsyre, natriumomadin og 2-brom-10 2-nitropropan-1,3-diol (BND). Denne forbindelse kan fås under handelsnavnet "Bronopol" fra Boots Chemical Company, Ltd., London, UK.

15 En foretrukken udførelsesform for opfindelsen anvender bromcresolpurpur som farveindikator sammen med 2-brom-1-nitropropan-1,3-diol (BND) som den konserverende forbindelse. BND er farveløs, når forbindelsen sættes til mælk. Tilsætningen af bromcresolpurpur forårsager imidlertid en mørk blå farvning af mælken ved pH 6,7, når mælken er 20 frisk. Denne farve antyder over for de personer, der håndterer mælkeprøverne, at der er tilsat konserveringsmiddel, og at mælken ikke kan anvendes til konsum.

25 Konserveringsmidlerne, der anvender bromcresolpurpur giver følgende farveomslag:

30

35

Farveskift af bromcresolpurpur i mælk

|       | <u>pH</u> | <u>Farve</u>                           | <u>Aktion</u>                                                                                                          |
|-------|-----------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5     | 6,7 - 6,3 | blå til blågrå                         | prøven normal;<br>undersøgelsen kan<br>fortsætte                                                                       |
| ----- |           |                                        |                                                                                                                        |
| 10    | 6,3 - 5,3 | grågrøn med spor<br>af gul til gulgrøn | undersøg prøven for om<br>den er kornet, koagu-<br>leret og/eller for<br>valledannelse; hvis<br>ingen, undersøg prøven |
| ----- |           |                                        |                                                                                                                        |
| 15    | 5,3 - 4,6 | gul med intet spor<br>af grønt         | kassér prøven                                                                                                          |
| ----- |           |                                        |                                                                                                                        |

20 Under anvendelse af det omhandlede bromcresolpurpurpræpa-  
rat kan forsøgspersonalet, der skal undersøge mælkeprø-  
ven, afgøre ud fra prøvens farve, om denne er velegnet.  
Dersom prøven er blå eller blågrå, er pH-værdien således,  
at der ikke med nogen sandsynlighed er sket nogen væsent-  
lig nedbrydning af prøven. Dersom farven udviser spor af  
25 gult sammen med grønt, er pH-værdien inden for det områ-  
de, hvor koagelnedbrydning eller syreproteolyse kan fore-  
komme, afhængig af den tilstedeværende mikroorganisme.  
Det er nødvendigt at undersøge prøverne for tegn på pro-  
teinudfældning, dvs. kornethed, koageldannelse eller val-  
30 leudskillelse. Dersom nogen af disse tegn forekommer, bør  
prøven bortkastes. Dersom de ikke forekommer, kan prøven  
undersøges. Hvis prøven endelig er gul uden noget spor af  
grønt, er pH således, at mælkesyreudfældning næsten sik-  
kert vil have foregået, og prøven bør bortkastes.

35

Det omhandlede indikator- og konserveringsmiddel kan nor-  
malt kombineres med et inert fast eller flydende bærer-

- stof. Bekvemst er de forenet med et fast bærerstof til dannelsen af tabletter af passende størrelse til behandling af de pågældende mælkeprøver. De relative og absolute forhold mellem konserveringsmiddel, farveindikator og vehikel afhænger af den mælkeprøves størrelse, der skal behandles, samt af de effektive koncentrationer af de aktive ingredienser og tablettens størrelse. Bromcresolpurpur bør sættes til tabletten i en mængde, der er tilstrækkelig til at give en koncentration på mindst 0,01 mg/ml, når den er sat til mælkeprøven sædvanligvis i området fra 0,015 til 0,05 mg/ml. De effektive områder for de forskellige konserveringsmidler er velkendte af fagmanden.
- Som det inerte bærerstof kan typisk anvendes et opløseligt salt som f.eks. natriumchlorid eller kaliumchlorid, udvalgt afhængigt af, hvad der er tilgængeligt, og hvad der er billigt. Andre bestanddele kan sættes til tabletten herunder antiklumpemidler og glittemidler, der vil lette tabletdannelsen i tabletpressen, og dispergeringsmidler, der forbedrer tabletternes opløsning i mælken. Eksempler på antiklumpemidler, glittemidler og dispergionsmidler er angivet nedenfor.
- Et eksempel på en tablet til behandling af en mælkeprøve på 50 ml er angivet nedenfor:

Eksempel på tabletsammensætning<sup>1</sup>

| 30 | Komponent                        | Effektivt <sup>6</sup><br>område | Foretrukken <sup>6</sup><br>sammensætning |
|----|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|
|    | Bromcresolpurpur                 | 0,50-1,0%                        | 0,75%                                     |
|    | BND                              | 5,00-10%                         | 10,0%                                     |
|    | Vehikel <sup>2</sup>             | 0,00-95%                         | 47,25%                                    |
| 35 | Antiklumpemiddel <sup>3</sup>    | 0,25-2,0%                        | 1,00%                                     |
|    | Glittemiddel <sup>4</sup>        | 0,25-2,0%                        | 1,00%                                     |
|    | Dispergeringsmiddel <sup>5</sup> | 0,25-50%                         | 40,00%                                    |

1. Baseret på behandling af 50 ml mælkeprøve.
2. Sædvanligvis KCl og/eller NaCl.
3. Siliciumoxid, siliciumdioxid og kombinationer heraf.
4. Stearinsyre, laurinsyre, oleinsyre, borsyre og kombi-  
5 nationer heraf.
5. Glucono- $\delta$ -lacton.
6. Procent baseret på 120 mg-tabletter.

10 Ovennævnte eksempel på en tablet kan fremstilles på følgende måde. De krystallinske bestanddele, f.eks. BND, KCl, NaCl og glucono- $\delta$ -lacton blandes med halvdelen af borsyren og sigtes gennem en 20 maskevidde (Tyler standard) sigte. De pulveriserede bestanddele, f.eks. siliciumdioxid og stearinsyre blandes med resten af borsy-  
15 ren og sigtes gennem en 40 maskevidde (Tyler standard) sigte. Bromcresolpurpurforbindelsen formales, typisk i en morter, idet en lille del af den krystallinske blanding er tilsat. De øvrige krystallinske bestanddele, bromcresolpurpurforbindelsen og de pulveriserede komponenter  
20 blandes herefter og blandes endelig i en tromleblander, indtil midlet er ensartet, hvilket sædvanligvis tager fra 20-40 minutter. Midlet kan herefter slås til tabletter af passende størrelse.

## 25 Forsøg

Prøver (50 ml) af frisk rå mælk og frisk homogeniseret mælk med tilsat bromcresolpurpur (18 mg/liter) blev podet med en frisk mælkekultur af *Streptococcus cremoris* (4  
30 rumfangs-%). Prøverne dyrkedes herefter ved ca. 30 °C gennem forskellige tidsrum, hvorefter de hurtigt neddyk- kedes i isbad. Konsistens, farve, pH, procent titrerbar syre (%TA) og celletæthed (kolonidannende enheder/ml) be- stemtes i hver prøve. Resultaterne er angivet i tabel 1  
35 nedenfor.

Tabel 1

Dyrkningstid (timer)

| Prøve              | Måling  | 0     | 1,5      | 2,0      | 2,5      | 3,0          | 3,5          | 4,0      |
|--------------------|---------|-------|----------|----------|----------|--------------|--------------|----------|
| Rå mælk            | pH      | 6,45  | 6,30     | 6,10     | 5,99     | 5,79         | 5,65         | 5,08     |
|                    | %TA     | 0,19  | 0,23     | 0,26     | 0,30     | 0,34         | 0,38         | 0,48     |
|                    | cfu/ml* | 0,66  | 1,50     | 2,10     | 3,50     | 5,70         | 8,20         | 5,60     |
|                    | farve   | blå   | grå-grøn | gul-grøn | gul-grøn | lys gul-grøn | lys gul-grøn | gul      |
|                    |         |       |          |          |          |              |              |          |
| Konsistens         |         |       |          |          |          |              |              |          |
|                    |         | væske | væske    | væske    | væske    | væske        | væske        | udfældet |
|                    |         |       |          |          |          |              |              |          |
| Homogeniseret mælk | pH      | 6,45  | 6,34     | 6,12     | 5,98     | 5,77         | 5,27         | 4,85     |
|                    | %TA     | 0,19  | 0,22     | 0,26     | 0,30     | 0,35         | 0,46         | 0,54     |
|                    | cfu/ml* | 0,76  | 1,30     | 2,40     | 3,30     | 6,30         | 7,80         | 7,50     |
|                    | farve   | blå   | grågrøn  | gul-grøn | gul-grøn | lys gul-grøn | klar gul     | klar gul |
|                    |         |       |          |          |          |              |              |          |
| Konsistens         |         |       |          |          |          |              |              |          |
|                    |         | væske | væske    | væske    | væske    | væske        | udfældet     | udfældet |

---

 \* ( $\times 10^8$ ) cfu = kolonidannende enhed

Prøver (50 ml) frisk rå mælk og frisk homogeniseret mælk med tilsat bromcresolpurpur (18 mg/liter) behandlede med mælkesyre for at efterligne syreudvikling forårsaget af bakterievækst. Konsistens, farve, pH og %TA bestemtes i  
5 hver prøve. Resultaterne er angivet i tabel 2.

10

15

20

25

30

35

Tabel 2

| Prøve              | Måling     | Mælkesyre (10%,ml) |       |       |       |       |       |          |
|--------------------|------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
|                    |            | 0                  | - 0,5 | 1,0   | 2,0   | 3,0   | 4,0   | 5,0      |
| Rå mælk            | pH         | 6,56               | 6,45  | 6,34  | 6,09  | 5,82  | 5,59  | 5,27     |
|                    | %TA        | 0,16               | 0,19  | 0,22  | 0,28  | 0,34  | 0,40  | 0,46     |
|                    | farve      | blå                | blå   | grå-  | gul-  | gul-  | gul-  | lys gul  |
| Homogeniseret mælk | konsistens | væske              | væske | grøn  | grøn  | grøn  | grøn  | udfældet |
|                    | pH         | 6,68               | 6,49  | 6,34  | 6,06  | 5,77  | 5,54  | 5,11     |
|                    | %TA        | 0,15               | 0,18  | 0,21  | 0,27  | 0,34  | 0,40  | 0,47     |
|                    | farve      | blå                | blå   | grå-  | gul-  | gul-  | gul-  | gul      |
| konsistens         |            | væske              | væske | grøn  | grøn  | grøn  | grøn  | udfældet |
|                    |            |                    |       | væske | væske | væske | væske |          |

Resultaterne viser, at den omhandlede farveindikator giver en god indikation på begyndende bakteriel nedbrydning af mælk. Denne indikation muliggør, at laboratoriepersonale, der skal undersøge mælk, kan undersøge de enkelte prøver og fjerne de prøver, der ikke kan anvendes til laboratorieundersøgelse.

10

15

20

25

30

35

## P a t e n t k r a v :

-----

1. Konserveringsmiddel, der sættes til en mælkeprøve, medens den er frisk, inden den sendes til et laboratorium for at undersøge mælkens sammensætning, idet konserveringsmidlet omfatter en forbindelse, der hæmmer bakteriel nedbrydning af mælken, k e n d e t e g n e t ved, at en indikatorforbindelse eller en kombination af indikatorforbindelser, der er kompatibel/kompatible med den nedbrydningshæmmende forbindelse, er indarbejdet i konserveringsmidlet ved prøveundersøgelse inden undersøgelse af sammensætningen heraf, idet indikatorforbindelsen, når den er sat til mælken, ændrer farve over et pH-område fra 6,6 til 4,6, idet bakteriel nedbrydning resulterer i en registrerbar ændring af mælkens farve.

2. Konserveringsmiddel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at indikatorforbindelsen er valgt blandt bromcresolpurpur, chlorphenolrødt, nitrazingult og bromthymolblåt.

3. Konserveringsmiddel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at midlet er formuleret som en tablet indeholdende en tilstrækkelig mængde bromcresolpurpur som indikatorforbindelse til at give en koncentration på mindst 0,01 mg/liter, dersom det opløses i en prøve mælk med forudbestemt rumfang.

4. Konserveringsmiddel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at det omfatter

5 til 20 vægt-% 2-brom-1-nitropropan-1,3-diol, der udgør den nedbrydningshæmmende forbindelse;

0-95 vægt-% vandopløselig vehikel; og

0,5 til 1,0 vægt-% bromcresolpurpur, der udgør indikatorforbindelsen;

idet konserveringsmidlet er i form af en tablet, der vejer passende til behandling af en forud afmålt mælkeprøve.

5 5. Konserveringsmiddel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at tabletten også omfatter fra 0,25 til 2 vægt-% antiklumpemiddel, fra 0,25 til 2 vægt-% glittemiddel og fra 0,25 til 50 vægt-% dispergeringsmiddel.

15 6. Fremgangsmåde til undersøgelse af mælkeprøver i et laboratorium for bakteriel nedbrydning inden undersøgelse af sammensætningen heraf, ved hvilken fremgangsmåde der anvendes et konserveringsmiddel indeholdende en nedbrydningshæmmende forbindelse og en indikatorforbindelse, eller en kombination af indikatorforbindelser, der er kompatible hermed, der ændrer farve i vandig opløsning over  
20 pH-området fra ca. 4,6 til 6,6, k e n d e t e g n e t ved, at man sætter en forud bestemt mængde af konserveringsmidlet til mælkeprøver, medens prøverne er i det væsentlige friske;

25 at man undersøger farven af hver mælkeprøve umiddelbart inden undersøgelse af mælkens sammensætning; og

at man sammenligner den observerede farve med farvestandarder, der er indikative for graden af bakteriel nedbrydning.  
30

7. Fremgangsmåde ifølge krav 6, k e n d e t e g n e t ved, at indikatorforbindelsen er bromcresolpurpur.