

*Э. А. Петрова, Е. И. Козельцева, С. Н. Верещак, Л. Д. Божко
РУП «Институт мясо-молочной промышленности»*

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОКА, ОБРАБОТАННОГО ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСНЫМ МЕТОДОМ

Приведены результаты исследований проб молока, обработанного электроимпульсным методом на разработанной модельной установке, предназначенной для демонстрации возможностей данной технологии.

Проведены исследования по изучению влияния электроимпульсного воздействия на микробиологические, технологические и физико-химические показатели молока.

Работа проведена специалистами РИЦ РУП «Институт мясо-молочной промышленности НАН Беларуси» на оборудовании, разработанном в ГНУ «ИТМО им.А.В. Лыкова НАН Беларуси».

Первостепенной задачей для молочной промышленности является производство качественных и безопасных для здоровья молока и молочных продуктов питания. Продукты при этом должны иметь высокие потребительские свойства и иметь наибольшую биологическую ценность.

Молоко, поступающее на переработку и в торговую сеть для непосредственного потребления, проходит тепловую обработку. Тепловая обработка молока, прежде всего, предназначена для уничтожения патогенных микроорганизмов. Кроме того, она увеличивает стойкость молока и способствует значительному сокращению количества микроорганизмов нарушающих технологические процессы. Традиционные методы тепловой обработки (стерилизация и пастеризация) гарантируют микробиологическую безопасность молока, но при этом приводят к разрушению полезных компонентов.

В процессе нагревания химические и физические структуры молока подвергаются большим изменениям: разрушаются витамины, изменяется молекулярная структура белков, молочные сахара разрушаются и кристаллизуются, происходит изменение первоначальной струк-

туры молока и как следствие, происходит снижение его биологической ценности.

Таким образом, создание высокоэффективного оборудования на основе прогрессивных технологий, которое позволит сохранить пищевую и биологическую ценность молока, имеет большое значение.

В ГНУ «ИТМО им А.В. Лыкова НАН Беларуси» была разработана и сконструирована опытная установка для электроимпульсной обработки жидких пищевых продуктов. Эта технология относится к так называемым «холодным» технологиям пастеризации, при которых не происходит нагрева молока выше 60 °С. Сущность метода заключается в использовании высоковольтных электрических разрядов субмикросекундной длительности. [1].

Данная технология позволяет производить электроимпульсную обеззараживающую обработку жидкостей, жидкотекучих пищевых продуктов (вода, молоко, фруктовые и овощные соки) и обеспечивает высокий уровень энергосбережения.

Целью нашей работы была оценка эффективности электроимпульсного метода при обработке молока.

В качестве критериев оценки эффективности электроимпульсной обработки были приняты гигиенические нормативы, установленные в СанПин 1163 РБ 98 п. 6.2.1.2 [2], для молока пастеризованного: КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов) и БГКП (бактерии группы кишечных палочек).

На первом этапе исследований, молоко обрабатывали на модельной установке производительностью 10–15 л/час (скорость прохождения молока через разрядную камеру). Основной задачей этого этапа являлось определение эффективности электроимпульсной обработки, которая оценивалась по двум микробиологическим показателям:

- общему количеству бактерий, оставшихся после «нетепловой пастеризации», к количеству бактерий, содержащихся в сыром молоке

- отсутствию кишечной палочки при посеве обработанного электроимпульсами молока в среду Кесслера.

В ходе исследований, отбирали пробы сырого сборного молока поступающего на молокозавод, обрабатывали их при различных режимах работы установки (варьировались амплитуда и частота повторения импульсов) и высевали для определения в них количество МАФАМ и БГКП.

Количество МАФАМ (мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов) определяли по ГОСТ 9225-94 [3].

Метод заключается в высеве продукта или разведении навески продукта в плотную питательную среду, инкубировании при 30 °С в течение 72 ч, и подсчете всех выросших видимых колоний.

Определение БГКП проводили по ГОСТ 30518-97 [4].

Метод основан на способности БГКП (колиформных бактерий родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*) сбраживать в питательной среде лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 °С в течение 24 ч. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Микробиологические показатели молока обработанного электроимпульсным методом

Проба молока	Режим обработки			КМАФАнМ	Засеваемый в среду Кесслер объем продукта							
	U кВ	F Гц	V л/ч		10,0	1,0	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001	0,000001
К				4,0 10 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+
1	18	40	10	3,0 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–
2	19	40	10	3,0 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–
3	20	40	10	2,5 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–
4	22	40	10	2,5 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–
5	24	40	10	3,0 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–
6	24	40	15	3,5 10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–

К – сырое сборное молоко, 1–6 – молоко, обработанное электроимпульсами,

«+» – присутствие БГКП в определенном объеме,

«–» отсутствие БГКП в определенном объеме.

Результаты, полученные в ходе данных исследований, показали, что в обработанном электроимпульсами молоке наблюдалось снижение общего количества бактерий и уменьшение титра бактерий группы кишечной палочки.

Однако следует отметить, что в некоторых случаях пробы сырого молока отобранного из танкера не соответствовали по микробиологическим показателям требованиям СТБ 1598-2006 Молоко коровье. Требования при закупках [5].

Известно, что степень уничтожения микроорганизмов в процессе стерилизации зависит от исходного количества микроорганизмов в сыром молоке. Чем выше количество микроорганизмов в сыром молоке, тем больше их остается после пастеризации [6]. Поэтому, несмотря на значительное уменьшение количества бактерий в процессе электроимпульсной обработки, КМАФАнМ не достигало уровня соответствия требованиям СанПин к молоку пастеризованному.

Наиболее ценной составляющей частью молока являются белки. Белки молока можно разделить на две группы: казеин и сывороточные белки.

Казеин в молоке находится в виде сложного комплекса с солями кальция и фосфорной кислоты.

Основную часть сывороточных белков составляют α -лактоальбумины, β -лактоглобулины и иммуноглобулины, содержащиеся в молоке в тонкодиспергированном состоянии.

При обработке молока нагреванием в наибольшей мере изменяются сывороточные белки. Происходят глубокие изменения их молекулярной структуры. Длительное нагревание молока приводит к почти полной коагуляции наиболее чувствительных к нагреванию β -лактоглобулина и иммунных глобулинов и в меньшей степени α -лактоальбумина и сывороточного альбумина [7].

Так как производство пастеризованного молока требует сохранения биологической ценности белков, целью следующего этапа исследований было определение соотношения казеина и сывороточных белков в молоке прошедшем электроимпульсную обработку.

Проведение работы заключалось в:

- определении массовой доли общего азота ($N_{\text{общ}}$) молока методом Кьельдаля по ГОСТ 2332 [8]. Метод основан, на минерализации пробы молока серной кислотой в присутствии катализатора, дистилляции аммиака с водным паром, поглощении его раствором борной кислоты и титровании последней раствором соляной кислоты с индикацией точки эквивалентности по изменению окраски индикатора

- определении содержание казеина (m_k) в молоке по методу Маттиопуло (метод кислотного титрования);

- определении массовой доли небелкового азота ($N_{\text{небелк}}$) методом Кьельдаля;

- определение массовой доли белка $m_b = 6,38 \times (N_{\text{общ}} - N_{\text{небелк}})$;

- определение массовой доли сывороточных белков $m_{\text{св}} = m_b - m_k$;

Результаты исследований белковых фракций молока, обработанного электроимпульсным методом, представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Влияние электроимпульсной обработки на белковые фракции молока

Проба молока	Режим обработки			Наименование показателя									
	U, кВ	F, Гц	V, л/час	Массовая доля белка, m_b		Белковые фракции							
				Содержание азота, мг/100г	% белка	Общий азот $N_{\text{общ}}$, мг/100г	Небелковый азот $N_{\text{небелк}}$, мг/100г	Казеиновый азот $N_{\text{каз}}$			Азот сывороточных белков $N_{\text{с.б.}}$		
								мг/100г	% белка	% содержания от белка	мг/100г	% белка	% содержания от белка
К				496,8	3,17	523,2	26,4	456,1	2,91	91,8	40,7	0,26	8,2
1	20	40	10	492,8	3,14	519,3	26,5	448,1	2,86	91,1	44,7	0,28	8,9
К	20	40	12	505,1	3,22	531,6	26,5	460,4	2,94	91,3	44,7	0,28	8,7

Проба молока	Режим обработки			Наименование показателя									
	U, кВ	F, Гц	V, л/час	Массовая доля белка, m_b		Белковые фракции							
				Содержание азота, мг/100г	% белка	Общий азот $N_{общ.}$, мг/100г	Небелковый азот $N_{небелк.}$, мг/100г	Казеиновый азот $N_{каз}$			Азот сывороточных белков $N_{с.б.}$		
								мг/100г	% белка	% содержания от белка	мг/100г	% белка	% содержания от белка
2				505,1	3,22	532,3	26,8	452,8	2,89	89,8	52,7	0,33	10,2
К				503,0	3,21	529,5	26,5	469,1	2,99	93,1	33,9	0,22	6,9
3	22	40	10	514,4	3,28	541,4	27,1	476,8	3,04	92,7	37,6	0,24	7,3
К				505,1	3,22	531,6	26,5	460,4	2,94	91,3	44,7	0,28	8,7
4	22	40	12	513,1	3,27	539,7	26,6	481,6	3,07	93,9	31,5	0,20	6,1
К				496,8	3,17	523,2	26,4	456,1	2,91	91,8	40,7	0,26	8,2
5	23	40	15	493,4	3,15	520,1	26,7	447,9	2,86	90,8	45,5	0,29	9,2
К				505,1	3,22	531,6	26,5	460,4	2,94	91,3	44,7	0,28	8,7
6	24	20	10	506,1	3,23	532,9	26,8	452,5	2,89	89,5	53,6	0,34	10,5

К – сырое сборное молоко; 1–6 – обработанное электроимпульсами молоко;

F – частота повторения импульсов; U – амплитуда высоковольтных импульсов;

V – скорость прохождения молока через разрядную камеру.

Таким образом, установлено, что соотношение белковых фракций (казеина и сывороточных белков) в молоке после электроимпульсной обработки не изменилось. Следовательно, пищевая ценность такого молока выше, чем пастеризованного традиционным способом.

Качество молочных продуктов зависит от состояния жировой фазы молока. Молочный жир содержится в молоке в виде стойкой жировой эмульсии. Стабильность ее обусловлена особыми свойствами поверхности жировых шариков, а именно: жировые шарики имеют оболочку, которая состоит из внутренней мембраны (фосфолипидный слой) и внешнего слоя (белковый слой и гидратная вода). Состав и структура оболоч-

ки жировых шариков изменяются в процессе обработки, охлаждения и хранения молока.

При воздействии высоких температур происходит денатурация оболочечного белка жировых шариков, в результате чего наблюдается вытапливание жира во время пастеризации. В практике молочной промышленности все усилия направлены на то, чтобы при производстве питьевого молока и продуктов из сливок сохранить эмульсию «молочный жир-вода» и, насколько возможно, стабилизировать ее [9].

Результаты исследования жировой фракции молока обработанного электроимпульсным методом представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Влияние электроимпульсной обработки на жировую фракцию молока

Проба молока	Режим обработки			обра- зец	Наименование показателя				
	U, кВ	F, Гц	V, л/час		массовая доля жи- ра, %	количество жировых шариков в см ³	средний диаметр жировых шариков, мкм	скорость отстаивания сливок, мин	содержание неомыляемых веществ в молочном жире, %
1	20	40	10	К	4,0	$3,3 \cdot 10^9$	2,6	60	0,44
				1	4,0	$3,0 \cdot 10^9$	4,1	50	0,45
2	20	40	12	К	3,4	$2,7 \cdot 10^9$	2,8	68	0,31
				2	3,9	$3,1 \cdot 10^9$	3,2	50	0,30
3	22	40	10	К	3,8	$2,8 \cdot 10^9$	5,1	60	0,38
				3	3,8	$3,1 \cdot 10^9$	2,4	60	0,36
4	22	40	12	К	3,4	$2,7 \cdot 10^9$	2,8	68	0,31
				4	4,0	$3,3 \cdot 10^9$	2,6	60	0,44
5	23	40	15	К	4,0	$3,3 \cdot 10^9$	2,6	60	0,44
				5	4,0	$3,4 \cdot 10^9$	2,5	50	0,42
6	24	20	10	К	3,4	$2,7 \cdot 10^9$	2,8	68	0,31
				6	3,9	$3,0 \cdot 10^9$	2,9	50	0,33

К – сырое сборное молоко; 1–6 обработанное молоко;

U – амплитуда высоковольтных импульсов; F – частота повторения импульсов;

V – скорость прохождения молока через разрядную камеру.

Таким образом, обработка молока электроимпульсным методом в заданных режимах не оказывает видимого влияния на жировую фракцию молока. Наблюдается лишь некоторое увеличение скорости отстаивания сливок в обработанном молоке по сравнению с контрольным, что можно объяснить влиянием электрических импульсов на оболочку жировых шариков.

В дальнейшем опытная установка для электроимпульсной обработки жидких пищевых продуктов была модернизирована: увеличена производительность установки до 300 л/час (скорость прохождения молока через разрядную камеру), изменены технологические параметры обработки, оптимизирована конструкция рабочей камеры.

На модельной модифицированной установке были проведены исследования по изучению влияния электрических импульсов на выживаемость определенных видов микроорганизмов. Были использованы культуры бактерий *E. coli* и *S. aureus*.

E. coli, является типичным представителем бактерий группы кишечных палочек. Бактерии группы кишечных палочек относятся к санитарно-показательным микроорганизмам и используются для оценки качества молока и молочных продуктов.

Стерильное молоко, контаминированное *E. coli*, обрабатывали электроимпульсами и высевали на плотную среду Эндо. На среде Эндо

E. coli образуют колонии красного цвета с металлическим блеском. Подсчет выживших после обработки бактерий проводили методом прямого подсчета на плотной питательной среде [10].

В отличие от санитарно-показательных микроорганизмов, по наличию которых можно косвенно судить о наличии в продукте патогенных микроорганизмов, коагулазоположительные стафилококки сами могут являться причиной возникновения заболеваний. Поэтому отсутствие этих микроорганизмов в продуктах связано с прямой оценкой безопасности его употребления.

Результаты исследований микробиологических показателей искусственно контаминированного молока подвергнутого электроимпульсной обработке представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты исследования микробиологических показателей искусственно контаминированного молока, подвергнутого эллектроимпульсной обработке

№ опыта	Проба молока		Температура молока		Режим обработки			Количество бактерий <i>E. coli</i> (КОЕ/мл)	Засеваемый в среду Кесслер объем продукта, см ³								
			перед обработкой, °С	после обработки, °С	<i>U</i>	<i>F</i>	<i>V</i>		1,0	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001	0,000001	0,0000001	
					кВ	Гц	л/ч										
1	К (молоко, контам. <i>E. coli</i>)							6,0·10 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	1	38	40	24	200	300	6,0·10 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	2	38	44	24	600	300	4,0·10 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
2	К (молоко, контам. <i>E. coli</i>)							9,0·10 ⁸	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	33	41	24	600	300	5,0·10 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	4	33	45	23	900	300	2,0·10 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
3	К (мол., контам. <i>S. aureus</i>)							5,0·10 ⁷									
	5	37	43	24	600	300	1,5·10 ⁷										
	6	37	47	23	900	300	8,0·10 ⁶										

К – контроль контаминированного молока; 1–6 обработанное электроимпульсами молоко, контаминированное *E. coli* или *S. aureus*; амплитуда высоковольтных импульсов; *F* – частота повторения импульсов; *V* – скорость прокачки молока через разрядную камеру; «+» – присутствие *E. coli* в определённом объёме; «-» – отсутствие *E. coli* в определённом объёме

Результаты исследований показали значительное уменьшение количества бактерий *E. coli* и *S. aureus*. Однако увеличение скорости прохождения молока через разрядную камеру снижает эффект электроимпульсного воздействия.

Различные режимы обработки оказывают разное воздействие на микробиологические показатели молока. Увеличение мощности, т.е. амплитуды высоковольтных импульсов увеличивает бактерицидный эффект обработки.

Увеличение скорости прохождения молока через разрядную камеру снижает эффективность обработки молока.

Увеличение частоты импульсов приводит к некоторому снижению их амплитуды и не оказывает заметного влияния на конечный результат обработки.

Из примененных режимов наиболее оптимальным оказался режим 22 кВ, 40 Гц, 10 л/час.

КМАФАнМ в среднем снижался в 20–100 раз. Количество бактерий группы кишечной палочки уменьшалось в среднем на 5 порядков.

Эффективность электроимпульсной обработки зависит от уровня микробной загрязненности исходного молока

Соотношение белковых фракции (казеина сывороточных белков) в молоке после электроимпульсной обработки практически не менялось.

Литература

1. Васильев, Г. М. Электроимпульсная технология пастеризации молока / Васильев Г. М., Васецкий В.А., Васильева Э.М., Ганжа В.Л. // Энергоэффективность, – 2001 – № 9 – С. 12-13.

2. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные правила и нормы: СанПиН 11 63 РБ 98 – Введен 29.04.1998.: с изм.: текст по состоянию на 1 апр. 2007 г. – Минск: Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 1998. – 218 с.

3. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа: ГОСТ 9225-84 – Взамен ГОСТ 9225-68; Введен 01.01.1986: с изм.: текст по сост. на 1 апр. 2007 г. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – 14 с.

4. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий):

ГОСТ 30518-97 – Введен 01.06.1999. – Минск: Межгос. совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1999. – 6 с.

5. Молоко коровье. Требования при закупках: СТБ 1598-2006 – Введен с 31.01.2006. – Минск: Госстандарт, 2006 – 12 с.

6. Банникова Л.А. Микробиологические основы молочного производства / Л.А.Банникова, Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина; под ред. канд. техн. наук Я.И. Костина. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.

7. Лабораторный практикум по общей и специальной технологии пищевых производств / О.М. Аношина, Г.М. Мелькина, Ю.И. Сидоренко и др. – М.: КолосС, 2007. – 183 с.

8. Молоко и молочные продукты. Методы определения общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка: ГОСТ 23327-98 – Введен с 01.03.2000. – Минск: Межгос. совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1999. – 7 с.

9. Дьяченко П.Ф. Технология молока и молочных продуктов / П.Ф. Дьяченко, М.С. Коваленко, А.Д. Грищенко, А.И. Чеботарев. – М.: Пищевая промышленность, 1997. – 447 с.

10. Методы культивирования микроорганизмов: ГОСТ 26670–91 – Взамен ГОСТ 26670-85; Введен 25.12.91. – М.: Комитет стандартизации и метрологии СССР, 1991. – 12 с.