

УДК 637.141.3

Машкін М.І., професор
Могутова В.Ф., старший викладач
Литвин Т.О., магістрантка
Сумський національний аграрний університет

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ПИТНОГО ПАСТЕРИЗОВАНОГО МОЛОКА З ПОКРАЩЕНИМИ ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

Встановлено, що при додаванні лізоциму в молоко в кількості 1,0...1,5 мг/дм³ при температурі 3...4°C з витримкою 60...70 с збільшується термін зберігання і значно поліпшуються функціональні властивості молока.

Ключові слова: *питне пастеризоване молоко, лізоцим, технологія, бактерицидні властивості, мікроорганізми.*

В даний час підприємствами молочної промисловості залежно від способу теплової обробки виробляються пастеризовані та стерилізовані види питного молока [5,6]. Технології виробництва питного пастеризованого молока, що існують на сьогоднішній день, не є досконалими. Основна причина цього є втрата в процесі переробки функціональних властивостей молока як унікальної біологічної рідини; нетривалі терміни (до 10 діб) зберігання молока; обмеженість науково-обґрунтованих рекомендацій по комплексній переробці сировини із залученням досконалого високопродуктивного устаткування і біологічно активних речовин.

В молочної промисловості при виробництві сирів, дитячих молочних продуктів є досвід використання природних антимікробних чинників молока, одним з яких є лізоцим. Проте відомості застосування лізоциму в технології пастеризованого молока в літературі відсутні. У зв'язку з цим беззаперечний інтерес представляє застосування біотехнологічних методів, що дозволяють подовжити терміни зберігання пастеризованого молока та поліпшити його функціональні властивості, не змінивши природи молока. Воно будучи джерелом повноцінного білку, полікомпонентно по складу, неадекватно по функціонально-технологічним властивостям, біологічно активне і під впливом зовнішніх чинників змінює свої властивості. З цієї точки зору, перспективним є використання ферментів бактеріологічної дії, тобто, лізоциму. Реакції, які каталізуються цим ензимом, приведуть до лізису (розчинності) відповідних бактеріальних клітин.

Метою даної роботи було модифікація технології питного пастеризованого молока і розробка біотехнології з використанням природного ферментного препарату лізоциму.

Методика досліджень. Досліди проводили в умовах науково-дослідної лабораторії кафедри технології молока і м'яса Сумського національного аграрного університету, виробничої лабораторії Охтирського сироробного комбінату ПП "Рось". Для поліпшення функціональних властивостей пастеризованого молока використовували лізоцим – кодовий номер по номенклатурі ферментів 3.2.1.17, клас – гідролази, підклас – глікозидази, молекулярна маса до 18000, будова молекули ферменту – глобулярна, у структурі немає металу, оптимальна рН – 5,0...7,0, температура - 30°C, термостабільність до 160°C протягом 2 год. Лізоцим представляє

собою фактор природного імунітету організму і відіграє роль бактеріального чинника, який каталізує гідроліз полісахаридних ланцюгів пептидогліканового шару клітинної оболонки бактерії, що визиває лізис клітин [8].

Відбір зразків молока здійснювали згідно ДСТУ 4834:2007. В роботі використовували аналітичні та експериментальні методи досліджень. Титруєму кислотність визначали у відповідності з ГОСТ 3624-92; термостійкість – за ГОСТ 25228-82; оцінку органолептичних показників за п'яти бальною шкалою проводили відповідно з ГОСТ 28283-89; визначення концентрації лізоциму проводили згідно методики П. А. Ємельяненко; визначення колоній мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ) проводили за ГОСТ 9225-84; загальної кількості спор мезофільних анаеробних бактерій в молоці – згідно ГОСТ 25102-82; кількість молочнокислих бактерій (МКБ) за ГОСТ 10444.11-89. Бактерицидну активність молока визначали нефелометричним методом в модифікації О. В. Бухаріна і А. Б. Чемного.

Обробку експериментальних даних, проводили на ПЕВМ Pentium II з використанням пакету прикладних програм Statistica і Ofise (Gropt 8) фірми Microsoft.

Результати досліджень. Для перевірки дії лізоциму в молоці ставили модельний дослід з використанням чистих культур грампозитивних спороутворюючих бактерій. Чисту культуру бактерій *B.subtilis* вносили в молоко. Кількість спор складала від 10 до 80 КУО/см³, що відповідало кількості мікроорганізмів (головним чином спороутворюючих), які містяться в пастеризованому молоці при асептичних умовах транспортування.

Препарат лізоциму вносили в молоко з розрахунку від 0,5 до 2,5 мг/дм³, який заздалегідь розчиняли в невеликій кількості води. Проби зберігали в звичайних умовах при температурі 4...6°C і при підвищеній - 18...20°C. Час витримки змінювали від 60 до 360 хв з інтервалом 60 хв.

У пробах контролювали кількість спорових бацил. Для визначення залишкової кількості лізоциму використовували реакцію лізису *Micrococcus luteus* під його впливом. Результати досліджень представлені в табл. 1.

Дані таблиці свідчать, що в пробах молока без внесення препарату лізоциму, що зберігалися при температурі 4...6°C, через 6 годин зберігання відмічено збільшення числа клітин *B.subtilis* у 1,7 разів, тоді як внесення лізоциму в концентрації 0,5 мг/дм³ викликало лізис до 13% клітин, а при концентрації 1,0; 1,5; 2,0 і 2,5 мг/дм³ до 20% молока.

Можна відзначити, що стабільний ефект дії ферменту в концентраціях 1,0...2,5 мг/дм³ свідчить про недоцільність збільшення його дозування. Помітної зміни концентрації лізоциму в молоці при зберіганні в цьому режимі також не відбувається.

Внесення лізоциму до молока з подальшим зберіганням останнього при температурі 18...20°C супроводжується повним лізисом клітин *B.subtilis* (при концентрації 0,5 мг/дм³ - через 6 годин; при концентрації 1,0 мг/дм³ - через 5 годин; при концентраціях 1,5; 2,0; 2,5 мг/дм³ - через 4 години) через 6 годин у всіх дослідях спостерігалось зниження лізоциму на 2%. Тест на чистих культурах достатньо точний з мікробіологічної точки зору, але для практики представляє інтерес лише при асептичному надходженні молока в резервну ємність. У теперішніх умовах виробництва на етапі резервування відбувається забруднення молока не одним видом мікроорганізмів [2].

Вміст мікроорганізмів в молоці у момент резервування залежить від його обсіменіння після пастеризації і від потрапляння мікроорганізмів з поверхні трубопроводів і резервуарів, температури та тривалості зберігання пастеризованого молока [3]. Нами досліджувалась загальна кількість мікроорганізмів в залежності від якості санітарної обробки технологічного обладнання (табл. 2).

Таблиця 1. Вплив лізоциму на бактерицидні властивості молока

Тривалість резервування, хв	Контрольовані показники										
	Вміст клітин <i>B.subtilis</i> , КУО/см ³						Залишкова кількість лізоциму, мг/дм ³				
	Дозування лізоциму, що вноситься у молоко, мг/дм ³										
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
	Температура 4...6°C										
0	76	48	54	61	80	71	0,51	1,09	1,58	2,12	2,53
60	75	48	54	60	75	68	0,51	1,09	1,56	2,10	2,53
120	80	46	52	58	71	62	0,51	1,06	1,53	2,08	2,52
180	94	45	50	56	68	60	0,51	1,00	1,50	2,08	2,50
240	102	42	46	54	64	58	0,49	1,00	1,50	2,06	2,50
300	126	41	44	50	65	57	0,49	0,98	1,50	2,03	2,47
360	134	41	42	47	64	57	0,49	0,99	1,50	2,03	2,47
	Температура 18...20°C										
0	68	73	68	80	74	64	0,51	1,04	1,52	2,05	2,51
60	92	21	17	26	19	18	0,49	1,00	1,52	2,05	2,50
120	108	5	10	8	5	3	0,49	1,00	1,46	1,92	2,48
180	90	6	2	2	4	2	0,49	0,96	1,46	1,92	2,45
240	220	3	2	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	0,49	0,96	1,45	1,92	2,45
300	315	4	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	0,48	0,96	1,45	1,92	2,45
360	360	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	0,48	0,96	1,45	1,92	2,45

Таблиця 2. Кількість мікроорганізмів на поверхні технологічного обладнання

Показники	Санітарна обробка обладнання		
	добра	незадовільна	відсутня
Загальна кількість мікроорганізмів, тис, КУО/см ³	1,0...1,4	15...30	21...100

Як видно з таблиці 2 кількість мікроорганізмів, що потрапляють в молоко при високому рівні санітарної гігієни не перевищує 1400 КУО/см³. Проте при незадовільному митті та дезінфекції, конструктивних недоліках, технологічне обладнання може стати суттєвим джерелом забруднення пастеризованого молока мікроорганізмами.

На підставі проведених досліджень була розроблена технологічна схема виробництва молока пастеризованого (рис. 1). При цьому враховувались загальноприйняті технологічні процеси [1,7].

Згідно технологічної схеми, відібране за якістю молоко бактофугують при температурі 55±5°C і частоті обертання барабану 4700 об/хв., пастеризують при температурі 78±2°C протягом 20 с, охолоджують і резервують молоко при температурі 4±2°C, вносять лізоцим, проводять нормалізацію і гомогенізують при тиску 12...13 МПа і температурі 60...70°C, пастеризують при 95±2°C і витримці 4 с охолоджують до температурі 4±2°C і направляють в проміжний резервуар через асептичний клапан.

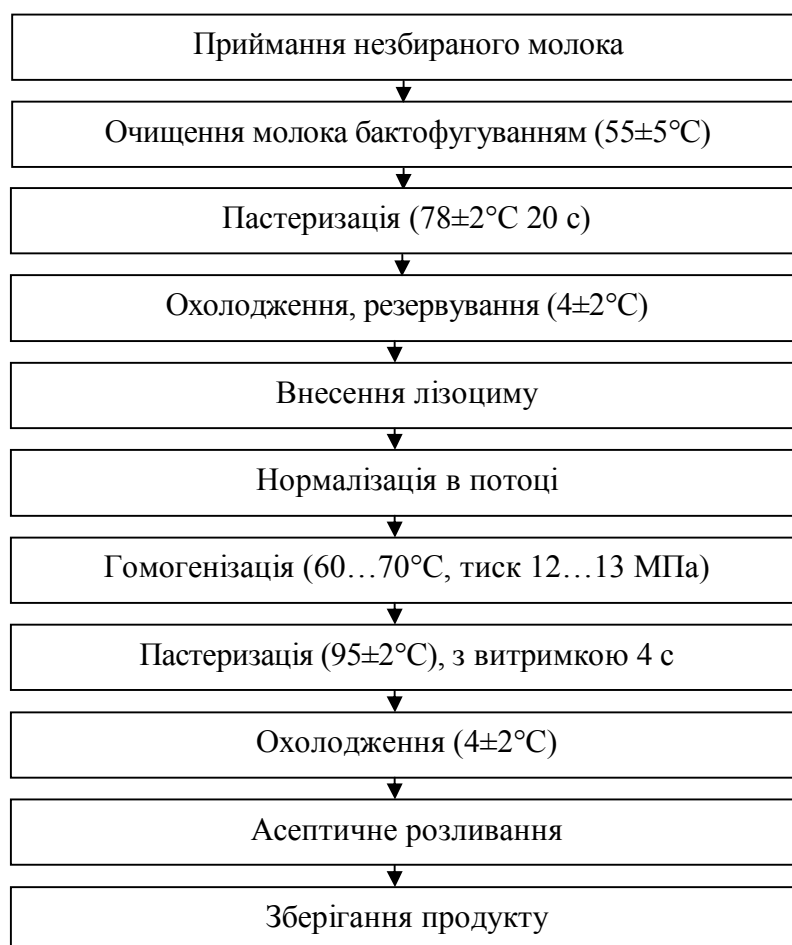


Рис. 1. Технологічна схема виробництва молока пастеризованого з внесенням лізоциму

Доцільність внесення лізоциму при резервуванні пояснюється тим, що саме на цьому етапі технологічної обробки молока відбувається зростання числа мікроорганізмів, що зберегли свою життєздатність після першої пастеризації, і додаткова забрудненість молока мікрофлорою ззовні. Внесення лізоциму знижує інтенсивність цих процесів і збільшує ефективність другої пастеризації без зміни її режимів (рис. 2).

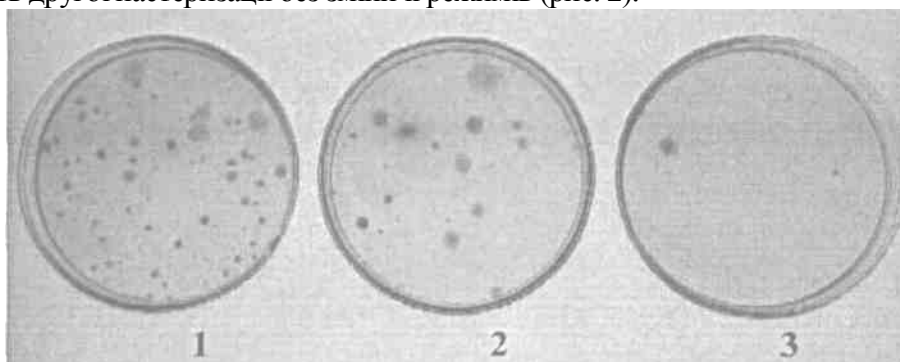


Рис. 2 Залежність КМАФАнМ при використанні лізоциму

- 1 - молоко з резервуару (без внесення лізоциму);
- 2 - молоко з резервуару (з використанням лізоциму в дозі 1,5 мг/дм³);
- 3 - молоко після II пастеризації (з використанням лізоциму в дозі 1,5 мг/дм³).

Розроблена технологія молока питного пастеризованого подовженого терміну зберігання з внесенням лізоциму дозволяє зберігати ряд біологічних властивостей. При проведенні досліджень на етапі резервування пастеризованого молока вносили різну кількість лізоциму за 60 хв. до початку другої пастеризації. Природній лізоцим руйнується в процесі виробництва пастеризованого молока в зв'язку з подвійною термічною обробкою. При внесенні ферменту в молоко перед пастеризацією бактерицидна активність зберігається до 85,3% з початку зберігання і до 43,1% через 42 доби. Все це дає змогу констатувати перевагу виробництва молока пастеризованого по розробленій технології.

Крім того, в молоці присутні мураміддинпептиди, які звільнились після гідролізу клітинних оболонок бактерій. Вони стимулюють імунологічні реакції в організмі людини, тим саме підвищуються функціональні властивості [8].

Для встановлення можливих термінів зберігання молока виробленого за технологією з внесенням лізоциму, зберігали при температурі 2...4°C протягом півтора місяця. Препарат лізоциму з активністю 70000 од. був внесений за 1 годину до другої пастеризації з розрахунку 1 мг/дм³, при температурі 4±2°C.

У пробах визначали кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ), аеробних спорових бактерій і бактерій групи кишкових паличок (БГКП).

Критерієм для зняття зразків із зберігання була їх невідповідність вимогам технічної документації по будь-якому з показників якості, що передбачалися документом і зниження концентрації лізоциму менше 0,5 мг/дм³. Результати досліджень представлені в таблиці 3.

Таблиця 3. Зміна показників якості питного пастеризованого молока в процесі зберігання

Термін зберігання молока, доба	Показники якості молока				Оцінка смаку і запаху, бали (максимум 5 балів)
	КМАФАнМ, КУО/см ³	Спороутворюючі мезофільні аероби, КУО/см ³	Вміст лізоциму, мг/дм ³	Кислотність, °Т	
0	20	17	1,0	17	5
10	19	11	0,96	17	5
15	18	10	0,92	17	5
20	15	11	0,88	17	5
25	12	8	0,87	17	5
30	8	7	0,81	17	5
35	6	7	0,78	17	5
40	140	20	0,75	17	5
42	750	30	0,70	17	5
44	1020	40	0,50	17	5
46	22000	150	0,25	17	5
48	58000	140	0,10	18	5
51	103000	ПО	сліди	18	4
55	10,2×10 ⁶	210	сліди	19	2

Дані таблиці 3 показують, що збереження смаку, запаху, кольору і консистенції забезпечується впродовж 48 діб. На 54 добу з'являється слабо кислий смак, зростає кислотність до 19°Т. Відомо, що в молоці, яке містить велику кількість мікроорганізмів,

лізоцим швидко руйнується і досить швидко втрачає свою антибактеріальну дію. У нашому досліді вміст лізоциму знижується до $0,7 \text{ мг/дм}^3$ лише на 42 добу, що свідчить про досить низьке бактеріальне обсіменіння дослідного продукту. Протягом 35 діб зберігання фермент впливав на бактерицидну дію, оскільки кількість визначених мікроорганізмів в цей період помітно знижувалась. Протягом подальших 13 діб спостерігалось збільшення обох мікробіологічних показників, причому кількість лізоциму менше впливала на молочнокислу мікрофлору, ніж на спороутворюючі мезофільно-аеробні мікроорганізми, що не суперечить літературним даним [4].

На підставі проведених досліджень встановлено, що тривалість зберігання при температурі $2...4^\circ\text{C}$ пастеризованого молока, отриманого за технологією з використанням лізоциму і збереженням функціональних властивостей може бути в межах 42 діб. Отримані результати дозволили розробити технологію питного пастеризованого молока з лізоцимом і впровадити у виробництво.

Висновки: 1. Визначені оптимальні умови дії лізоциму на грампозитивну мікрофлору (концентрація $1,0...1,5 \text{ мг/дм}^3$, термін витримки $60...70 \text{ хв.}$, температура $3...4^\circ\text{C}$).

2. Внесення лізоциму не змінює органолептичних властивостей молока (запах, смак, колір, консистенція), він стійкий до теплової обробки.

3. Лізоцим дозволяє збільшити термін зберігання пастеризованого молока до 42 діб та отримати продукт з поліпшеними функціональними властивостями.

4. Бактерицидна активність пастеризованого питного молока з лізоцимом підвищується на $85,3\%$.

Література

1. Грек О. В. Технологія продуктів зі знежиреного молока, молочної сироватки і маслянки / О. В. Грек, Г. Є. Поліщук, О. О. Онопрійчук. Навчальний посібник. – К.: НУХТ. – 2011. – 210 с.
2. Золотой А. Ю. Формирование качества молока / А. Ю. Золотой, В. П. Тищенко, Е. В. Малышева // Молочная промышленность. – 2003. – № 1. – с. 41-43.
3. Королева Н. С. Микробиологические и физико-химические процессы при хранении пастеризованных молока и сливок. / Н. С. Королева // Молочная промышленность. – 1986. – № 2. – с. 18-22.
4. Кручек О. А. Розробка технології пастеризованого молока з подовженим терміном зберігання : / автореф. дис. на здобуття наук, ступеня канд. техн. наук / О. А. Кручек. - Одеса, 2007. - 20, с.
5. Машкін М. І. Технологія виробництва молока і молочних продуктів. / М. І. Машкін, Н. М. Париш: Навчальне видання. – К.: Вища освіта. – 2006. – 351 с.
6. Пономарев А. Н. Молоко пастеризованное повышенной хранимостности. / А. Н. Пономарев // Молочная промышленность. – 2000. – № 9. – с. 41-42.
7. Скорченко Т. А. Технологія незбираномолочних продуктів / Т. А. Скорченко, Г. Є. Поліщук, О. В. Грек, О. В. Кочубей. За редакцією Скорченко Т. А. Навчальний посібник. – Вінниця : Нова книга. – 2005. – 264 с.
8. Шергина И. А. Действие лизоцима на маслянокислые и молочнокислые бактерии. / И. А. Шергина, Н. А. Шергин, Г. Д. Перфильев // Молочная промышленность. – 1987. – № 12. – с. 15-16.

References

1. Hrek O. V. Tekhnolohiia produktiv zi znezhyrenoho moloka, molochnoi syrovatky i maslianky / O. V. Hrek, H. Ye. Polishchuk, O. O. Onopriichuk. Navchalnyi posibnyk. – K.: NUKhT. – 2011. – 210 s.
 2. Zolotoi A. Yu. Formirovaniye kachestva moloka / A. Yu. Zolotoi, V. P. Tyshchenko, E. V. Malysheva // Molochnaia promyshlennost. – 2003. – № 1. – s. 41-43.
 3. Koroleva N. S. Mykrobiolohycheskye y fizyko-khymycheskye protsessy pry khranenyu pasteryzovannykh moloka y slyvok. / N. S. Koroleva // Molochnaia promyshlennost. – 1986. – № 2. –
-

