

IV. ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

УДК 637.13-047.37

ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВО-ЖИРОВОЇ ФРАКЦІЇ МОЛОКА, ОБРОБЛЕНОГО ВИСОКИМ ТИСКОМ

В. О. Сукманов, доктор технічних наук;

В. В. Кійко, кандидат технічних наук

В усьому світі над проблемою якості молока в різних її аспектах працюють десятки тисяч учених і практичних фахівців: хіміків і фізиків, біологів і фізіологів, селекціонерів, зоотехніків, технологів і товаровознавців.

Підвищена увага до вирішення цієї проблеми визначається перш за все бажанням сучасного споживача купувати натуральних харчових продуктів, технологія виробництва яких передбачає мінімальний вплив на їхні природні властивості та не порушує збалансованість основних компонентів.

Це зумовлює необхідність розробляти і впроваджувати принципово нові технології обробки рідких харчових продуктів. Однією з таких технологій є «паскалізація», сутність якої полягає в обробці молока високим тиском на гідростатичних установках при різних температурних режимах. Дана технологія успішно використовується в багатьох зарубіжних країнах. Практика її використання свідчить про те, що паскалізація не тільки забезпечує ефективну мікробну інактивацію, але й покращує органолептичні властивості та значно продовжує термін зберігання харчових продуктів.

Дослідження в області створення нових і вдосконалення існуючих технологій виробництва з метою отримання питного молока високої якості широко відображені в наукових працях багатьох вітчизняних учених: Горбатової К. К., Шалигіної А. М., Крусъ Г. Н., Алексеевої Н. Ю., Ліпатова Н. Н., Чагоровського В. П., Кручек І. Г., Шурчкової Ю. Н., Сукманова В. О., а також ряду зарубіжних дослідників: Datta N., Deeth N., Hayashi R., Kawamura Y., Kunugi S., Knorr D., Mussa D., Kessler H., Lopez-Fandino R., Funtenberger S., Dumay E., Anema S., Lee S. та ін.

В Україні проблема застосування технології паскалізації стає все більш актуальною, вирішення якої дозволить отримувати продукти з високими санітарно-бактеріологічними показниками без втрати природних харчових властивостей.

Наявні в науковій літературі дані не пояснюють повною мірою механізм впливу високого тиску на основні складові компоненти молока, а в деяких випадках є суперечливими.

Враховуючи потреби галузі й вимоги сучасного ринку, проблемною науково-дослідною лабораторією «Використання висо-

кого тиску в харчових технологіях» на базі Донецького національного університету економіки і торгівлі імені Михайла Туган-Барановського проведено комплекс науково-дослідних робіт з вивчення впливу високого тиску на безпеку, харчову і біологічну цінність молока та збільшення термінів його зберігання.

Мета статті полягає у вивченні зміни ступеня і характеру складу та властивостей білкової, жирової фракцій молока при його обробці високим тиском.

Для досягнення поставленої мети, на підставі порівняльного аналізу механізму впливу паскалізації і традиційної високотемпературної обробки (пастеризації) молока, було досліджено характер дії високого тиску на білки молока та молочний жир, структура і властивості яких обумовлюють біологічну цінність продукту.

Попередніми дослідженнями встановлено раціональні режими паскалізації молока, застосування яких дозволяє максимально зберегти структуру, фізико-хімічні й органолептичні властивості продукту (250–330 МПа, температура витримки 40–45 °С, тривалість обробки 30–45 хв).

Дослідження фракційного складу білків молока проводилось методом гелі-електрофорезу на апараті конструкції К. А. Труваллера, Г. Н. Нефедова з використанням поліакриламідного гелю, сформованого у вигляді блоків, які розташовували в електрофоретичній камері вертикально. Сутність даного методу полягає у визначенні кількісного вмісту білкових фракцій молока та їх відносної електрофоретичної рухливості (ВЕР), що дозволяє інтерпретувати якісну зміну фракційного складу казеїну і сироваткових білків у паскалізованому молоці.

Стійкість молочного жиру сирого, пастеризованого та паскалізованого молока визначали, оцінюючи такі показники: вміст вільних жирних кислот у молоці (ВЖК), мг%; відсотювання жиру, %; середня кількість жирових кульок в 100 мл молока; середній діаметр жирових кульок, мкм.

Електрофореграми казеїну і сироваткових білків молока представлено на рис. 1 і 2.

Використовуючи наявні відомості в літературі, ми зробили спробу ідентифікувати фракції казеїну і сироваткових білків, досліджуваних зразків молока та їх генетичні варіанти за молекулярною масою і відотною електрофоретичною рухливістю (табл. 1).

Таблиця 1

Результати ідентифікації фракцій казеїну і сироваткових білків молока

Білки молока	Вміст фракцій білків, %	Молекулярна маса, тис.	Відносна електрофоретична рухливість (ВЕР)
Казеїн та його генетичні варіанти			
α_1 -казеїн $\alpha_1A, \alpha_1B, \alpha_1C, \alpha_1E, \alpha_1D$	~38	~23	0,34–0,51
α_2 -казеїн $\alpha_2A, \alpha_2B, \alpha_2C, \alpha_2D$	~10	~25	0,1–0,15
χ -казеїн ($\chi A, \chi B$)	~13	~19	0,71–0,8
β -казеїн $\beta A^1, \beta A^2, \beta A^3, \beta B, \beta C, \beta E$	~33	~24	0,21–0,25
γ -казеїн ($A^1 A^2 A^3 B$)	~6	~20–20,5	0,59
Сироваткові білки та їх генетичні варіанти			
β -лактоглобулін β -ЛгА, β -ЛгВ, β -ЛгС, β -ЛгD, β -ЛгDr	~52	~18	0,45–0,57
α -лактальбумін: α -ЛабА, α -ЛабВ	~23	~14	0,67
Імуноглобуліни (IgG ₁ , IgG ₂ , IgA, IgM)	~16	~150–1000	0,15–0,34
Альбумін сироватки крові	~8	~66	0,39

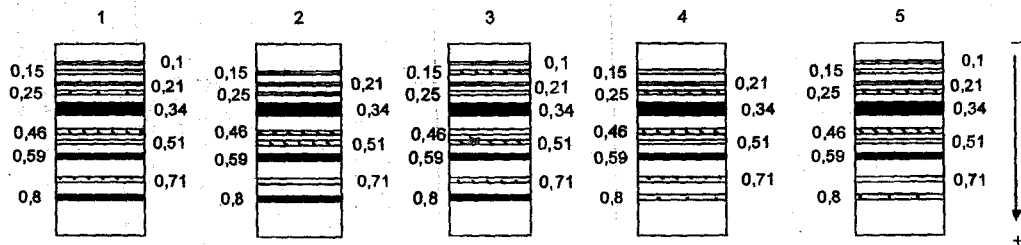


Рис. 1. Електрофореграми казеїну сирого молока і обробленого високим тиском:

1 – контроль (сире молоко);

2 – обробка молока параметрами: 250 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 45 хв;

3 – обробка молока параметрами: 300 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 30 хв;

4 – обробка молока параметрами: 300 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 45 хв;

5 – обробка молока параметрами: 330 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 30 хв

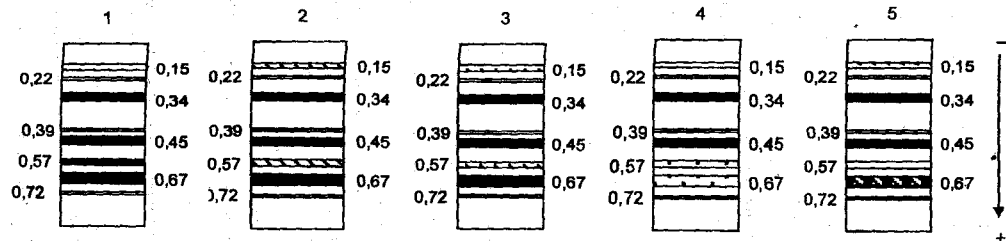


Рис. 2. Електрофореграми сироваткових білків сирого молока і обробленого високим тиском:

1 – контроль (сире молоко);

2 – обробка молока параметрами: 250 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 45 хв;

3 – обробка молока параметрами: 300 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 30 хв;

4 – обробка молока параметрами: 300 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 45 хв;

5 – обробка молока параметрами: 330 МПа при температурі 40 °С і тривалості обробки 30 хв

На електрофореграмах казеїну зона з ВЕР 0,1–0,15 відповідає α_2 -казеїну та його генетичним варіантам. Показник ВЕР 0,21 відповідає генетичним варіантам A^1 і B β -казеїну, 0,25 – βV^2 -казеїну. Фракції α_1 -казеїну розташовані в зоні з ВЕР від 0,34 до 0,51. В зоні з ВЕР 0,34 міститься α_1 -В-казеїн, з ВЕР 0,46 α_2 -А-казеїн, зона з ВЕР 0,51 відповідає α_2 -С-казеїну. γ_1 -казеїн розташований у зоні з ВЕР 0,59. Зона з ВЕР 0,71 і 0,8 відповідає фракції казеїну, що має найменшу молекулярну масу χ -казеїну і його генетичним формам χA і χB .

У результаті паскалізації молока відбулися помітні зміни в структурі фракційного складу казеїну. Так, у всіх зразках молока, обробленого різними режимами високого тиску зона з ВЕР 0,25 (фракція βV^2 -казеїн) виражена інтенсивніше порівняно з контролем.

При дії на молоко тиском 250 МПа з тривалістю обробки 45 хв зникає зона з ВЕР 0,1; при цьому зона з ВЕР 0,15 менш інтенсивно забарвлена, що свідчить про денатурацію фракції α_2 -казеїну. Ідентична картина на електрофореграми молока, обробленого тиском 300 МПа упродовж 45 хв, проте інтенсивність забарвлення зони з ВЕР 0,15 не змінюється. Таким чином, можна припустити, що обробка тиском упродовж 45 хв впливає на фракції α_2 -казеїну, причому більшою мірою при тиску 250 МПа. На електрофореграмах казеїну молока, обробленого 300 МПа упродовж 45 хв і 330 МПа 30 хв спостерігається зниження інтенсивності забарвлення зон з ВЕР 0,8 (фракція χ -казеїну), що свідчить про прямо пропорційну стійкість даної фракції до тиску і тривалості обробки.

На електрофореграми сироваткових білків сирого молока й обробленого високим тиском (рис. 2) видно, що в зонах з ВЕР 0,15; 0,22; 0,34 є видимими білки, що мають найбільшу молекулярну масу – імуноглобуліни та їх генетичні варіанти. Зону з ВЕР 0,39 займають альбуміни сироватки крові. Білок β -лактоглобулін розташований в зонах гелю з ВЕР 0,45; 0,57 і 0,67. Зона з ВЕР 0,72 відповідає фракції α -лактоальбуміну.

Аналіз отриманих електрофореграм сироваткових білків свідчить про зміни в зонах з ВЕР 0,22 при обробці молока 300 МПа упродовж 30 і 45 хв і 330 МПа – 30 хв. Зниження

інтенсивності забарвлення в даних зонах вказує на зміну структури імуноглобулінів. Зміни спостерігаються і у фракціях β -лактоглобуліну та α -лактоальбуміну. В результаті обробки молока вказаними режимами, залежно від ступеня збільшення тиску і тривалості дії, знижується вміст білкової фракції в зонах з ВЕР 0,57 і 0,67, відповідних β -лактоглобуліну. Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень зарубіжних учених. У праці Hayashi та інших [1] представлено опис механізму гідролізу харчового алергену β -лактоглобуліну, присутнього в молоці, який необхідно усунути при додаванні концентрованого молока до молочних адаптованих сумішей для немовлят і при цьому зберегти α -лактоальбумін. Вибіркове видалення β -лактоглобуліну з концентратів сироватки молока можливе способом гідролізу з ферментом термолізином під впливом високого тиску. При цьому стійкість до гідролізу α -лактоальбуміну обумовлено присутністю в його структурі чотирьох дисульфідних зв'язків. Активність термолізину, що зростає при дії тиском прискорює гідроліз β -лактоглобуліну набагато швидше і більш повно, при цьому α -лактоальбумін не руйнується.

Зона з ВЕР 0,72 (α -лактоальбумін) при обробці молока тиском 300 МПа 45 хв і 330 МПа 30 хв набуває інтенсивнішого фарбування, що свідчить про утворення комплексів між фракціями казеїну і сироваткових білків. Механізм утворення таких комплексів пов'язаний із розпадом гідрофобних зв'язків при використанні тиску 300 МПа і вище, внаслідок чого порушується цілісність міцели казеїну, що сприяє розпаду міцел на дрібніші частинки, при цьому χ -казеїн, який утримується в міцелі гідрофобними зв'язками переходить у стадію сироватки. Також можуть бути звільнені групи α -казеїну, зв'язаного колоїдним фосфатом кальцію. Сульфгідридна група, яка утворилась у результаті такого розпаду, активна і доступна для створення дисульфідних зв'язків [2].

Високий тиск призводить до зменшення середнього діаметра міцел казеїну, при цьому склад і поверхневі властивості перетворених міцел дуже відрізняються від міцел необробленого і нагрітого молока. Ступінь руйну-

вання міцели під тиском може бути більшим, ніж після його зняття. Крім того, руйнування не є миттєвим і залежить від тривалості дії, особливо при нижньому тиску. Зменшення розміру міцел може бути пояснене порушенням внутрішньоміцелярних кальцієвих зв'язків (R-Ca-R).

Відщеплення цього типу кальцію неминуче пов'язане з розпадом міцел. У літературі немає жодного свідчення про збільшення змісту Ca^{++} в результаті руйнування міцел казеїну під тиском, проте є думка, що зміна розмірів міцел казеїну супроводжується збільшенням розчинного кальцію. Так, Алета та інші (1997) припустили, що високий тиск ефективно порушує рівновагу між колоїдним і розчинним кальцієм, і це веде до розпаду міцели [3].

При атмосферному тиску розчинність колоїдного фосфату кальцію дуже залежить від рН середовища. При нормальному рН молока ця рівновага порушується у бік колоїдного стану. При обробці високим тиском нежире-

ного молока може відбутися зміна рН, проте його ступінь не встановлено.

Порівняльний аналіз дії високого тиску і температури на різні хімічні зв'язки вказує на відмінності в механізмі денатурації білків.

Денатурація білкового комплексу при пастеризації і стерилізації інтенсивніша: внаслідок утворення комплексів денатурованих сироваткових білків з γ -казеїном відбувається збільшення казеїнових міцел, що супроводжується збільшенням гідрофобних зв'язків, причому більшість β -лактоглобуліну пов'язана з поверхнею міцел. Такі зміни призводять до зниження термостійкості молока, появи присмаку пастеризації, утворення протеозо-пептонних фракцій, при цьому знижується біологічна цінність, ступінь засвоюваності білків і технологічні властивості продуктів [4].

Результати визначення показників стійкості молочного жиру за різних способів обробки молока подано в табл. 2.

Таблиця 2

Показники стійкості молочного жиру за різних способів обробки молока

Показники стійкості молочного жиру	Види молока за різними способами обробки			
	молоко сире	молоко пастеризоване (гомогенізоване)	Молоко пастеризоване	
			300 МПа – 40 °С – 30-60'с	330 МПа – 40 °С – 30-60'с
Кількість ВЖК, мг%	13,7±0,3	6,7±0,3	6,6±0,3	6,9±0,2
Відстоювання жиру, %	14,6±0,4	3,8±0,4	4,6±0,3	4,31±0,3
Середня кількість жирових кульок в 100 мл молока	2,48·10 ¹¹	3,29·10 ¹⁴	2,17·10 ¹⁴	2,21·10 ¹⁴
Середній діаметр жирових кульок, мкм	3,64±0,24	1,56±0,27	1,98±0,22	1,89±0,31

На підставі проведених нами досліджень було виявлено зниження ВЖК приблизно в однакових кількостях, так у пастеризованому гомогенізованому молоці цей показник знизився на 50,1 %, у молоці, обробленому високим тиском при 300 МПа, – на 49,6 %, при 330 МПа – на 51,8 % по відношенню до сирого (негомогенізованого) молока.

Підвищення рівня ВЖК у молоці в процесі зберігання спричинено, головним чином, впливом гідролітичних ферментів.

Зниження ВЖК в молоці свідчить про дезактивацію фермента ліпази в молоці, яка міститься в нативному і бактерійному вигляді.

При цьому нативна ліпаза міститься в значно менших кількостях і є менш стійкою, ніж ліпаза, яку продукують психотрофні бактерії та цвілеві гриби.

У результаті дослідження якісного складу мікрофлори молока було встановлено, що обробка молока високим тиском сприяє повній інактивації психотрофної мікрофлори, що знижує ризик мікробного ліполізу [5], тоді як за зберігання пастеризованого молока ризик розвитку бактерійного ліполізу є значно більшим унаслідок збереження психотрофної мікрофлори і частково бактерійної ліпази, яка інактивується за температур біля 100 °С.

На підставі аналізу ефекту гомогенізації було помічено, що в молоці після паскалізації не відбувалося скупчень кульок жиру і практично не спостерігався відстій вершків. Це свідчить про денатурацію білка евглобуліну, який обумовлює скупчення жирових кульок на поверхні.

Аналіз дисперсності молочного жиру молока, обробленого високим тиском, свідчить про збільшення загальної кількості жирових кульок і зменшення їхніх розмірів ідентично пастеризованому гомогенізованому молоку. Якщо в 100 мл сирого молока містилося 2,48·10¹¹ жирових кульок, то в паскалізованому і пастеризованому гомогенізованому молоці їхня кількість зросла більш ніж у 800 і в 1000 разів і становила відповідно 2,17·10¹⁴ – за 300 МПа, 2,21·10¹⁴ – за 330 МПа, 3,29·10¹⁴ – за гомогенізації.

Середній діаметр жирових кульок у сирому молоці був 3,64 мкм, у процесі гомогенізації і паскалізації цей показник не перевищував 2 мкм і становив 1,56 мкм у пастеризованому гомогенізованому молоці, 1,98 у паскалізованому за 300 МПа і 1,89 – за 330 МПа.

Проведені дослідження є свідченням того, що паскалізація має менш агресивну дію на протеїновий комплекс молока порівняно із загальноприйнятими способами температурної обробки та сприяє отриманню високого гомогенізуючого ефекту і стабілізації жирової фракції. На цій підставі використання встанов-

лених раціональних параметрів високого тиску дозволяє при виробництві питного молока максимально зберігати біологічну цінність сирого продукту, при цьому робити його безпечним за мікробіологічними показниками.

Завдання подальших досліджень буде орієнтовано на проведення більш глибокого аналізу змін у казеїнат-кальцій-фосфатному комплексі та жировій фракції молока, обробленого високим тиском, а саме: вивчення його жирово-кислотного складу, залишкової активності ліполітичних ферментів у процесі зберігання продукту і технологічних властивостей паскалізованого молока для застосування в молокопереробному виробництві.

ЛІТЕРАТУРА

1. Сукманов В. О. Зависимость биохимических свойств молока от способов обработки / В. О. Сукманов, В. Д. Малигина, В. В. Кийко // Товароведение, экспертиза и технология продовольственных товаров : сб. науч. пр. / Московский держ. ун-т харч. технологій. – М. : [б. в.], 2008. – С. 275–280.
2. Сукманов В. А. Исследование качественного состава микрофлоры молока в процессе паскализации и пастеризации / В. А. Сукманов, В. Д. Малигина, В. В. Кийко // Приоритеты и научное обеспечение реализации государственной политики здорового питания в России : сб. тез. докл. / Орловский гос. тех. ун-т. – Орёл, 2008. – С. 140–143.