4.02.25.

45 група

Теплова обробка молока

ЛПР " Дослідження впливу теплової обробки на властивості молока"

Мета роботи: дослідити вплив температури та тривалості оброблення на ефективність процесу пастеризації молока.

Предмет: наявність ферментів фосфатази та пероксидази, проба на альбумін.

Обладнання та реактиви: пробірки, мірний циліндр, водяна лазня, термометр, годинник, дистильована вода, 0,1 % розчин фенолфталеїнфосфата натрію, розчин йодистокалієвого крохмалю, 0,5
% розчин пероксиду водню, 1 % розчин крохмалю, 10 % розчин йодиду калію, 0.1 н. розчин H_2SO_4 робочий розчин резазурину, фільтрувальний папір, піпетка,.

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ

Пастеризація – найпоширеніший спосіб теплової обробки молока. Метою пастеризації є знищення патогенної [illegible]етативної мікрофлори молока, що робить молоко й молочні продукти нешкідливими [illegible] споживання та стійкими при зберіганні.

[illegible]ують наступні режими пастеризації молока: *тривала* (температура – 63…65°С з витримкою 30 хв; *короткочасна* (температура – 72…75°С з витримкою 15…20 с);

високотемпературна (температура – 85...90°С без витримки або з короткочасною витримкою);

ультра високотемпературна (температура – 135...150 °С з витримкою 2…3 с і швидким охолодженням до температури 4...5 °С).

Ефективність пастеризації залежить від якісного складу мікрофлори сирого молока. У молоці, охолодженому відразу після доїння, яке зберігається при низьких температурах до моменту теплової обробки переважають психротрофні бактерії. Ефективність пастеризації такого молока буває досить високою. Ефективність пастеризації значно знижується, якщо молоко після доїння було охолоджено недостатньо (до температури 10°С і вище), оскільки в ньому при зберіганні й транспортуванні розвиваються молочнокислі бактерії, у тому числі ентерококи, що характеризуються високою термостійкістю (гинуть при нагріванні молока до 85°С. Залишкова мікрофлора пастеризованого молока залежить від ефективності пастеризації молока й оцінюється за двома мікробіологічними показниками:

– по відсотковому співвідношенню кількості бактерій, що залишилися після пастеризації, до кількості бактерій, що містилися в сирому молоці;

– відсутності кишкової палички при посіві 10 мл пастеризованого молока в середовищі Кесслер.

При короткочасній пастеризації (75 °С) переважною залишковою мікрофлорою є

термофільні молочнокислі стрептококи й палички, ентерококи, мікрококи. Залишкова мікрофлора молока при моментальній пастеризації (85-90°С) або з короткочасною витримкою складається з термостійких молочнокислих паличок і спор бацил. А при нагріванні молока до 90-95°С с витримкою 10-30 хв. у ньому залишаються тільки спори бацил, причому активність їхнього проростання різко знижується.

Щоб установити чи піддавалося молоко пастеризації й чи достатньою була теплова обробка, проводять дослідження на наявність ферментів *фосфатази* й *пероксидази*. Ці ферменти є досить чутливими до нагрівання, що дозволяє за ступенем їх інактивації визначити ефективність різних способів теплової обробки молока.

Тривала й високотемпературна пастеризація руйнують лужну фосфатазу, тому присутність активної фосфатази в пастеризова молоці вказує або на неякісну пастеризацію, або на домішки сирого молока після теплової обробки. Оскільки температурний максимум руйнування фосфатази вище температурного максимуму знищення патогенних мікроорганізмів і токсинів, то негативна реакція на фосфатазу надійно захищає споживача від можливості поширення хвороб через молоко й молочні продукти.

Оцінку наявності ферменту фосфатази проводять пробою на фосфатазу по реакції з фенолфталеїнфосфатом натрію.

Метод заснований на гідролізі фенолфталеїнфосфата натрію ферментом фосфатазою. Фенолфталеїн, що звільнюється при гідролізі, у лужному середовищі дає рожеве фарбування.

Проба на фосфатазу по реакції з фенолфталеїнфосфатом натрію. У пробірку поміщають 2 $см^3$ аналізованого продукту, 2 $см^3$ дистильованої води (у пастеризоване молоко воду не додають) і 1 $см^3$ 0,1

% розчину фенолфталеїнфосфата натрію. Після додавання дистильованої води й реактиву вміст пробірки закривають пробкою й збовтують. Потім пробірку поміщають у водяну лазню з температурою 40-45°С і визначають колір фарбування вмісту пробірки через 10 хвилин і через 1 годину.

При відсутності ферменту фосфатази в молоці й молочних продуктах фарбування вмісту пробірки не змінюється. Отже, молоко й молочні продукти піддавалися пастеризації при температурі не нижче 63 °С.

При наявності фосфатази в молоці й молочних продуктах вміст пробірки набуває фарбування від ясно-рожевої до яскраво-рожевої. Отже, молоко й молочні продукти не піддавалися пастеризації або піддавалися пастеризації при температурі нижче 63°С, або були змішані з не пастеризованим продуктом.

Чутливість методу дозволяє виявити додавання не менш 2% не пастеризованих молочних продуктів до пастеризованого.

Фермент пероксидаза є більш термостабільним. Він руйнується при температурі 75°С із витримкою 10 хв, при 80°С із витримкою 20-30с або 85°С без витримки, тому за пробою на пероксидазу можна визначити ефективність тільки високотемпературної пастеризації.

Проба на пероксидазу з йодистокалієвим крохмалем. Метод заснований на

розкладанні пероксиду водню ферментом пероксидазою. Активний кисень, що звільнюється при розкладанні пероксиду водню, окисляє йодид калію, звільняючи йод, що утворює із крохмалем сполуку синього кольору - клатрат.

У пробірку, що містить 2 $см^3$ аналізованого продукту й 2 см дистильованої води доливають 5 крапель розчину йодистокалієвого крохмалю й 5 краплі 0,5 % розчину пероксиду водню, обертовими рухами перемішують вміст пробірки після додавання кожного реактиву. Потім визначають наявність пероксидази за зміною фарбування.

Якщо застосовують окремо розчин крохмалю і йодиду калію, то дослідження проводять у такий спосіб: у кожну пробірку із продуктами доливають 0,5 $см^3$ 1 %-вого розчину крохмалю, 2 краплі 10 %-вого розчину йодиду калію й 5 краплі 0,5 %-вого розчину пероксиду водню, перемішують вміст пробірок після додавання кожного реактиву, потім визначають наявність пероксидази за зміною фарбування.

При відсутності пероксидази в молоці й молочних продуктах колір вмісту пробірки не зміниться. Отже, молоко й молочні продукти пастеризували при температурі не нижче 80 °С.

При наявності пероксидази в молоці, вершках, вміст пробірок набуває темно-синього фарбування. Отже, продукти або не пастеризували, або пастеризували при температурі нижче 80 °С, або змішували з не пастеризованими молочними продуктами. Поява фарбування в пробірках більш ніж через 2 хвилини після додавання йодистокалієвого крохмалю й пероксиду водню не вказує на відсутність пастеризації, тому що може викликатися розкладанням реактивів.

Чутливість методу дозволяє виявити додавання не менш 5 % не пастеризованих молочних продуктів до пастеризованого.

Для визначення ефективності високотемпературної пастеризації молока може застосовуватися також лактоальбумінова проба. Вона служить для встановлення пастеризації при температурі вище за 80°С.

<u>Проба на казеїн.</u> Для аналізу змішати 5 мл молока й 20 мл води, вміст перемішати й поступово по краплях з бюретки прилити 0,1 н. розчин H_2SO_4 до повного осадження казеїну. Потім вміст відфільтрувати

й від фугата відібрати 5 мл, який прокип'ятити.

Якщо молоко було пастеризовано за температури вище за 80°С, то на стінках пробірки сліди білка не виявляються.

ПОСЛІДОВНІСТЬ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

1. **Дослідити вплив режимів пастеризації молока на інактивацію ферментів.** У пробірку налити 10 мл незбираного молока. Пробірку нагріти на водяній лазні до температури, заданої у варіанті (табл. 1) та витримати за даної температури зазначений час. Після цього вміст пробірки охолодити під струменем холодної води. У кожній пробі молока визначити наявність ферментів пероксидази й фосфатази, а також наявність альбуміну. Дані оформити у вигляді табл. 1.

Таблиця 1

Вплив режимів теплової обробки на стан ферментів в молоці

№ варіанту	Температура, °С	Тривалість витримки, хв	Проба (+/-) на ферменти:		Проба на казеїн
			пероксидаза	фосфотаза	
1	60	без витримки			
2	70	без витримки			
3	80	без витримки			
4	90	без витримки			
5	60	15			
6	70	15			
7	80	15			
8	90	15			

2. Оцінити стійкість пастеризованого молока під час зберігання.

У чисті пробірки налити по 1 $см^3$ робочого розчину резазурину й по 10 $см^3$ промислового пастеризованого молока. Пробу закрити гумовою пробкою, вміст перемішати трикратним перекиданням проб, після чого помістити на водяну лазню з температурою 38...40°С. Через одну годину оцінити колір вмісту пробірки та зробити висновок про стійкість пастеризованого молока. Результати оцінити відповідно до даних табл. 2.

Таблиця 2

Оцінка якості пастеризованого молока

№ з/п	Колір молока після витримки протягом 1 години	Оцінка стійкості пастеризованого молока	Характеристика зразків молока
1	Сіро-сталевий	Стійке	
2	Бузковий	Малостійке	
3	Рожевий	Нестійке	

Теплова обробка молока- дія на молоко високих температур. Температурну обробку (пастеризацію, стерилізацію) сирого молока проводять з метою знищення мікроорганізмів й інактивації їх ферментів, які знижують стійкість молока і в наступному спричиняють дефекти молочних продуктів.

Високі температури в порівнянні з низькими викликають у молоці більш глибокі зміни. Для теплової обробки молока застосовують пастеризацію і стерилізацію. *Пастеризація* - це нагрівання молока від 63°С до температури, близької до точки кипіння. *Стерилізація* - нагрівання молока вище 100°С під тиском. *Ультрапастеризація* - нагрівання до 135-140°С протягом 3-5 с.

Зміни, що відбуваються в молоці при *тепловій обробці,* залежать від температури і тривалості нагрівання. Температура *до 40°С* викликає утворення на поверхні молока білкової плівки, що складається з казеїну і жиру, що розчиняється у вапняній воді. Подальше нагрівання *до 70°С* робить цей процес незворотним і викликає денатурацію білків. при кип'ятінні молока і високотемпературній пастеризації спостерігається виділення сірководню й аміаку з білків. Молочна кислота, що утворюється в кип'яченому молоці, відщеплює від казеїну солі кальцію, і тому кількість вільної казеїнової кислоти збільшується. Тривале нагрівання молока *до 130°С* викликає коагуляцію казеїну.

Відомо, що пастеризоване молоко гірше згортається сичужним ферментом внаслідок переходу кальцієвих солей з розчинного стану в нерозчинний, що зменшує концентрацію іонів кальцію. Стерилізоване протягом 15 хв при 120°С молоко не згортається сичужним ферментом.

Альбумін починає згортатися при нагріванні молока до 65-70°С, цей процес незворотний. Ступінь згортання залежить від температури і тривалості її впливу на молоко. Нагрівання молока вище 100°С викликає його побуріння, а також розкладання молочного цукру з утворенням молочної і мурашиної кислот. Побуріння молока підсилюється при додаванні соди, тобто в слабко лужному середовищі. Це явище пояснюється появою в молоці під впливом кип'ятіння *меланоїдинів* - речовин, що виникають у результаті взаємодії амінокислот і білків з цукрами. Меланоїдини утворюються також при тривалому зберіганні сухих молочних продуктів у вологому середовищі.

При нагріванні виділяється вуглекислота, унаслідок чого кислотність молока знижується, а надалі , при утворенні кислот у результаті розкладання молочного цукру, вона підвищується. Так, *кислотність* холодного молока дорівнювала 16,7°Т; нагрітого до 80°С - 15,4; до 100°С - 14; до 120°С - 18,5 і до 140°С-29.5°Т. Нагрівання гідратної форми молочного цукру до 110-130°С збезводнює його за рахунок втрати кристалізаційної води, а при впливі температури 185°С лактоза карамелізується, набуваючи коричневий колір і характерний запах.

Висока температура викликає зміни й у сольовому складі (як у розчиненій, так і в колоїдальній частині). зміні піддаються й адсорбовані казеїном фосфорнокислі солі кальцію. У свіжому молоці солі кальцію і фосфорної кислоти знаходяться в трьох станах: розчиненому, колоїдальному і зв'язаному з казеїном, в останньому випадку - у виді подвійної чи адсорбованої солі. При нагріванні рівновага між цими солями, що існує в сирому молоці, порушується убік зменшення ступеня їхньої дисперсності. Цей процес незворотний, і тому при охолодженні молока первісний стан не відновлюється. З додаванням солей кальцію рівновага відновлюється частково, хоча в інших кількісних співвідношеннях, і молоко знову здобуває здатність згортатися сичужним ферментом. При пастеризації втрати фосфору складають 4,9%, при кип'ятінні - 5-6%, а при стерилізації - 9,3%.

Нагрівання змінює також *фізичні властивості молока*. Його в'язкість у цьому випадку знижується, що пояснюється зміною фізичного стану жирових кульок і самого жиру, частково зміною білка, денатурацією евглобуліну, а при більш високих температурах і

випаданням альбуміну. Зазначене зменшення в'язкості має практичне значення, дозволяючи краще знежирювати молоко сепаруванням, тому для сепарування молоко підігрівають до 35-45°С.

Зменшення в'язкості сприяє також відстою жирових кульок; він прискорюється при нагріванні до 61°С; подальше ж нагрівання сповільнює відстій до такого ступеня, що кип'ячене молоко відстоюється приблизно в 3 рази, а стерилізоване в 10 разів гірше, ніж сире. Пояснюється це явище зміною фізичного стану грудочок жирових кульок. Не нагріте молоко має здатність склеювати жирові кульки в грудочки, що сприяє відстоюванню, а при температурі вище 61°С жирові кульки роз'єднуються, унаслідок чого швидкість відстоювання швидко знижується. Тривале нагрівання молока при температурі 100°С змінює оболонки жирових кульок, жир частково витоплюється з них і при значному броунівському русі зливається, утворюючи краплі.

Нагрівання молока викликає дуже глибокі зміни в його *імунобіологічних властивостях.* Температура в 55°С викликає руйнування лише деяких ферментів, а при 80°С розкладаються усі ферменти, що є в молоці: чим нижче температура, тим повільніше відбувається руйнування, До високої температури в присутності кисню дуже чуттєві вітаміни А, В і С: у залежності від температури і тривалості її дії вони руйнуються в кількості 15-25%. При пастеризації молока вітаміни А, Е, В1 і РР піддаються незначним змінам. При нагріванні вище 70-80°С молоко зовсім утрачає свої бактерицидні властивості. При тривалій і моментальній пастеризації майже цілком гинуть у молоці вегетативні форми мікроорганізмів, як сапрофітних, так і патогенних. Стерилізація убиває і спорові форми мікроорганізмів. Таким чином, при тепловій обробці відбувається консервування молока. Однак вона приводить до змін фізико-хімічних і імунобіологічних його властивостей.

Пастеризація при 63°С протягом 30 хв викликає *наступні зміни* у властивостях молока: випадає невелика кількість (1-5%) альбуміну, відбувається незначний розпад фосфорно-кальцієвої солі, трохи знижується кислотність, руйнується амілаза, не погіршуються здатність молока згортатися сичужним ферментом і відстій вершків, а також бактерицидні властивості молока. В іншому пастеризоване молоко не відрізняється від сирого. В даний час замість цього режиму введений інший. В універсальних пастеризаторах молоко підігрівають до 75-76°С, витримують 15-20 с у тій же установці і охолоджують. Ефект приблизно такий ж як при тривалій пастеризації (63° С, 30 хв). За кордоном температуру знижують до 71-72° С. Одержує широке поширення замість стерилізації ультрапастеризація. Цей метод теплової обробки більш ефективний, ; тому що зміни імунобіологічних і нативних властивостей складових частин молока відбуваються в незначному ступені.

Моментальна пастеризація при температурі від 85 до 98°С без витримки супроводжується *більш глибокими змінами*. Альбумін майже цілком випадає. Казеїн починає змінюватися з виділенням незначної кількості сірководню. Розпад фосфорнокислих солей підсилюється, і рівновага їх порушується. Згортання сичужним ферментом і відстоювання жиру сповільнюються. Усі ферменти руйнуються. Вітаміни руйнуються трохи більше, ніж при тривалій пастеризації. Кислотність знижується. Бактерицидні властивості губляться цілком.

Усі режими пастеризації в різному ступені впливають на фракційний склад білків молока. Сироваткові білки, що є сумішшю декількох протеїнів з різним ступенем термостійкості, піддаються більш глибоким змінам. Найбільше термолабільні імунні глобуліни і сироватковий альбумін. Більш термостійкі α-лактоальбумін і β-лактоглобулін, останній обумовлює термостійкість молока. У казеїні, незважаючи на його відносну термостійкість, під впливом нагрівання також відбуваються деякі зміни - збільшення вмісту α-фракції і зниження кількості β- і γ-фракцій.

У сирому молоці завжди мається якась кількість вільних амінокислот, вміст яких коливається в залежності від різних факторів. Під впливом високої температури вміст вільних амінокислот підвищується пропорційно дії температури. Підвищення температури

впливає на ступінь дисперсності часток казеїну убік її зменшення, при цьому відбувається укрупнення казеїнових часток унаслідок утрати ними заряду.