

Галина Андреевна Донская

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией ресурсосберегающих процессов и функциональных продуктов, доктор биологических наук, Москва, Россия

E-mail: g_donskaya@vniimi.org

Виктор Михайлович Дрожжин

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, старший научный сотрудник лаборатории ресурсосберегающих процессов и функциональных продуктов, Москва, Россия

E-mail: v_drozzhin@vniimi.org

ВЛИЯНИЕ ТЕРМОМЕХАНИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА СОСТАВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЛОКА

Цель исследования – определить изменение состава и антиоксидантной активности (АОА) нативного молока в процессе гомогенизации при минимальных температурных воздействиях. Объекты исследования – сырое молоко, полученное из индивидуального хозяйства Подмосковья, и сборное сырое молоко, поступающее на предприятие отрасли; молоко гомогенизированное. Гомогенизацию проводили на лабораторной установке в интервале давлений 12,5–21 МПа при температурных режимах 28–30 и 38–40 °С. Антиоксидантную активность (суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов) определяли амперометрическим методом с использованием спектрометра «ЦВЕТ ЯУЗА-01-АА». Интегральную антиоксидантную активность определяли с использованием кулонометра «Эксперт-006» на базе Московского государственного университета пищевых производств. Физико-химические показатели молока определяли стандартизованными методами. Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) и активную кислотность – с помощью рН-метра иономера «Эксперт-001». В результате исследования установлено, что: термомеханическое воздействие на молоко при давлении гомогенизации 12,5–21,0 МПа и температуре 38–40 °С приводит к изменениям титруемой и активной кислотности, окислительно-восстановительного потенциала, массовой доли белка, массовой доли кальция; замораживание молока при температуре минус 16–20 °С и хранение его перед гомогенизацией на протяжении 10–40 сут в морозильной камере не оказывают влияния на содержание водорастворимых антиоксидантов в исходном нативном молоке (пробы № 2, 4); гомогенизация предварительно замороженного молока (10 сут хранения в морозильной камере) при температуре 38–40 °С и давлении 12,5–21 МПа повышает его АОА (пробы № 2, 3); увеличение длительности хранения замороженного молока до 40 сут и последующая гомогенизация при температуре 28–30 °С не оказывают влияния на антиоксидантную активность (проба № 4). На основании полученных данных можно заключить, что длительное воздействие отрицательных температур на молоко приводит к предположительной инактивации фермента ксантинооксидазы и замедлению окислительно-восстановительных процессов.

Ключевые слова: молоко, гомогенизация, температура, давление, кальций, белок, антиоксидантная активность, замораживание.

Galina A. Donskaya

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Resource Saving Processes and Functional Products, Doctor of Biological Sciences, Moscow, Russia

E-mail: g_donskaya@vniimi.org

Viktor M. Drozhzhin

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Senior Researcher at the Laboratory of Resource Saving Processes and Functional Products, Moscow, Russia

E-mail: v_drozhzhin@vniimi.org

THERMOMECHANICAL ACTIONS EFFECT ON THE COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MILK

The aim of the study is to determine changes in the composition and antioxidant activity (AOA) of native milk during homogenization at minimal temperature exposure. Objects of research are raw milk obtained from an individual farm in the Moscow Region, and bulk raw milk supplied to the industry enterprise; homogenized milk. Homogenization was carried out on a laboratory setup in the pressure range of 12.5–21 MPa at temperature conditions of 28–30 and 38–40 °C. Antioxidant activity (total content of water-soluble antioxidants) was determined by the amperometric method using a “CVET YAUZA-01-AA” spectrometer. Integral antioxidant activity was determined using an “Expert-006” coulometer at the Moscow State University of Food Production. Physicochemical parameters of milk were determined by standardized methods. Oxidation-reduction potential (ORP) and active acidity were determined using a pH-meter ionomer “Expert-001”. As a result of the study, it was found that: thermomechanical action on milk at a homogenization pressure of 12.5–21.0 MPa and a temperature of 38–40 °C leads to changes in titratable and active acidity, redox potential, protein mass fraction, calcium mass fraction; freezing milk at a temperature of minus 16–20 °C and storing it before homogenization for 10–40 days in a freezer does not affect the content of water-soluble antioxidants in the original native (samples No. 2, 4); homogenization of pre-frozen milk (10 days of storage in a freezer) at a temperature of 38–40 °C and a pressure of 12.5–21 MPa increases its AOA (samples 2, 3); an increase in the duration of storage of frozen milk up to 40 days and subsequent homogenization at a temperature of 28–30 °C do not affect the antioxidant activity (sample No. 4). Based on the data obtained, it can be concluded that prolonged exposure to negative temperatures on milk leads to a presumptive inactivation of the xanthine oxidase enzyme and a slowdown in redox processes.

Keywords: milk, homogenization, temperature, pressure, calcium, protein, antioxidant activity, freezing.

Введение. Поступающее на предприятие молоко, с целью получения качественного и безопасного в санитарно-гигиеническом отношении продукта, подвергается различным термомеханическим воздействиям. К ним относятся сепарирование, гомогенизация, бактофугирование, пастеризация, микрофилтрация и др. В процессе обработки под влиянием температурных факторов, сильных механических воздействий изменяются составные компоненты молока, происходят межфазовое перераспределение ферментов [1, 2], интенсификация биохимических процессов, оказывающих влияние на антиоксидантную систему молока [3]. Одним из наиболее активных компонентов антиоксидантной системы молока является фермент ксантинооксидаза, который окисляет различные альдегиды и пуриновые основания (ксантин и др.) до соответствующих кислот. Данный фермент обладает способностью восстанавливать нитраты в нитриты [4, 5, 12].

Ксантинооксидаза существует в молоке в двух состояниях – свободном и мембраносвязанном, от которых зависят ее каталитические свойства.

Известно, что молоко подвергается наиболее сильным механическим воздействиям в процессе гомогенизации. Возникающие при этом силы разрушают оболочку жировых шариков, представляющую смесь белков, фосфолипидов, триглицеридов, витаминов, ферментов. При этом из оболочек жировых шариков высвобождается фермент ксантинооксидаза [3]. Он переходит в обезжиренное молоко и становится более доступным для участия в биохимических процессах, повышая тем самым интегральную антиоксидантную систему молока.

Цель исследования: определение влияния гомогенизации на физико-химические показатели и антиоксидантную активность сырого молока.

Задачи исследования: определить влияние гомогенизации молока на кислотность, ОВГ, со-

держание белка и кальция; определить интегральную антиоксидантную активность и суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов в гомогенизированном молоке; исследовать влияние замораживания и длительности хранения проб молока на антиоксидантную активность.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись сырое молоко, полученное из индивидуального хозяйства Подмосковья; сборное сырое молоко, поступающее на предприятие отрасли; молоко гомогенизированное.

Гомогенизацию проводили на лабораторной установке в интервале давлений 12,5–21 МПа при температурных режимах 28–30 и 38–40 °С.

Антиоксидантную активность (суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов) определяли амперометрическим методом с использованием спектрометра «ЦВЕТ ЯУЗА-01-АА». Метод основан на измерении силы электрического тока, возникающего при окислении молекул антиоксиданта на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале, который после усиления преобразуется в цифровой сигнал. Суммарную концентрацию антиоксидантов рассчитывали, используя градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации галловой кислоты.

Интегральную антиоксидантную активность определяли с использованием кулонометра «Эксперт-006» на базе Московского государственного университета пищевых производств. Метод основан на способности электрогенерированного брома вступать в радикальные и окислительно-восстановительные реакции с возможностью замещения и присоединения по кратным связям. Это позволяет определить суммарное содержание антиоксидантов, присутствующих в анализируемом продукте.

Физико-химические показатели молока определяли стандартизованными методами. Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) и активную кислотность – с помощью рН-метра иономера «Эксперт-001».

Результаты исследования. Указанные режимы гомогенизации были выбраны исходя из их практического применения. Низкие режимы гомогенизации (12,5–15,0 МПа) обычно используют при производстве кисломолочных продуктов, питьевого пастеризованного молока с неболь-

шими сроками хранения. Режимы высокого давления (18–21 МПа) – это технологические режимы производства ультрапастеризованного молока с длительными сроками годности. Температуры гомогенизации в эксперименте были приняты ниже промышленных режимов (60–65 °С), чтобы исключить влияние теплового воздействия на нативные свойства молока.

Установлено, что при гомогенизации нативного молока с массовой долей жира 3,56–3,64 %, массовой долей белка 3,16–3,35 %, активной кислотностью рН 6,64–6,85 и титруемой кислотностью 17–21 °Т его физико-химические показатели претерпевали определенные изменения. При температуре гомогенизации 38–40 °С и давлении 21±1,5 МПа возрастали показатели титруемой кислотности на 3–7 °Т и окислительно-восстановительного потенциала на 9–10 мВ; уменьшались следующие показатели: активная кислотность – на 0,1–0,2 ед. рН и массовая доля белка – на 13–15 %. Массовая доля кальция возрастала на 10–11 %.

Известно, что в процессе гомогенизации под действием возникающих сил разрушается оболочка жировых шариков. Для создания оболочек вновь образовавшихся шариков жира используется часть плазменных белков, в том числе казеин и сывороточные белки.

Влияние термомеханических воздействий на молоко приводит к нарушению соотношения солевых форм кальция. В плазме молока увеличивается количество растворимого кальция. Часть коллоидных фосфатов и цитратов кальция адсорбируется поверхностью жировых шариков.

В молоке, гомогенизированном при давлении 12,5 МПа и температуре 38–40 °С, отмечали уменьшение массовых долей белка и кальция на 28,3 и 23,6 % соответственно. По данным Н.В. Барановского [6], при давлении гомогенизации 12–14 МПа происходит интенсивное уменьшение диаметра жировых шариков, что требует дополнительного расхода белка, участвующего в формировании оболочек вновь образовавшихся шариков жира. С повышением давления до 20 МПа процесс дробления жировых шариков замедляется.

Снижение содержания кальция при указанных выше условиях гомогенизации может быть обусловлено переходом растворимого гидро-

фосфата кальция (CaHPO_4) в трудно растворимый фосфат кальция – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Повышенная титруемая кислотность гомогенизированного молока, согласно многочисленным литературным данным, связана с активацией некоторых ферментов, в том числе липазы.

В итоге гомогенизированное при указанных режимах молоко отличается повышенной титруемой кислотностью, измененным содержанием кальция, меньшим содержанием белка в сравнении с исходным нативным молоком.

В условиях температурных режимов 28–30 °С, в интервале давлений гомогенизации

12,5–21,0 МПа изменения физико-химических показателей молока носили менее выраженный характер, что обусловлено пониженными температурами гомогенизации.

Антиоксидантную активность определяли в пробах нативного и гомогенизированного, при указанных выше режимах, молока. Результаты суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов в пробах молока № 2 и 4, полученные амперометрическим методом, и интегральная антиоксидантная активность проб молока № 1 и 3, измеренная кулонометрическим методом, показаны в таблице 1.

Таблица 1

АОА нативного (сырого) и гомогенизированного молока

Номер пробы	Образец (срок хранения в морозильной камере, сут)	Антиоксидантная активность		
		Молоко до гомогенизации	Молоко гомогенизированное (12,5 МПа)	Молоко гомогенизированное (21 МПа)
1	Молоко нативное*, мг/г СВ	2,79	2,70	8,02
2	Молоко нативное* (10), мг/100 г	1,6±0,5	1,9±0,5	3,1±0,6
3	Молоко нативное* (10), мг/г СВ	24,93	24,09	71,45
4	Молоко нативное** (40), мг/100 г	1,4±0,5	1,3±0,5	1,2±0,5

*Температура молока при гомогенизации 38–40 °С.

**Температура молока при гомогенизации 28–30 °С.

Пробы молока (№ 2–4) в силу объективных причин предварительно замораживали при температуре минус 16–20 °С и хранили в морозильной камере. По истечении определенного времени молоко размораживали естественным способом и определяли его антиоксидантную активность.

Известно, что замораживание и длительное хранение приводят к глубоким изменениям в составе молока. Эффективность воздействия замораживания зависит от интенсивности этого процесса, температурных факторов, продолжительности хранения молока. Кристаллизация воды, происходящая при замораживании молока, приводит к определенным структурным изменениям составляющих молока. В результате частичных деформаций оболочек жировых шариков при замораживании и деструкции мицелл

казеина, с которыми связаны многие окислительно-восстановительные ферменты, происходят изменения ферментативной активности молока [1].

Показано, что при хранении замороженного молока при минус 20 °С отмечается устойчивое повышение активности фермента ксантиноксидазы [7]. Данный фермент является основным белковым компонентом оболочек жировых шариков и находится на их внутренней поверхности [8, 9]. В оболочках жировых шариков сосредоточено около 80 % ксантиноксидазы от общего количества ее в сыром молоке [8, 10].

Проведенные исследования показали, что гомогенизация (температура 38–40 °С, давление 21 МПа) ранее замороженного и хранящегося в морозильной камере на протяжении 10 сут молока (пробы № 2, 3) приводит к повы-

шению его антиоксидантной активности примерно в 2,0 и 2,9 раза соответственно. Согласно аналитическим данным, с повышением давления гомогенизации происходит перераспределение ферментов, связанных с оболочкой жировых шариков и мицеллами казеина. Изменяется активность фермента ксантинооксидазы [3], усиливаются биохимические процессы с образованием компонентов, обладающих антиоксидательными свойствами.

По результатам АОА в пробах № 1–3 можно констатировать, что АОА молока является линейной функцией давления гомогенизации. Однако полученная закономерность справедлива лишь в определенном диапазоне давлений. При сверхвысоких (400–600 МПа) давлениях гомогенизации наблюдается снижение антиоксидантной активности, что обусловлено инактивацией фермента ксантинооксидазы [11], процессами агломерирования вновь образованных мелких жировых шариков. Ксантинооксидаза, входящая в состав мембран мелких жировых шариков, оказывается заключенной в агломерате и становится недоступной для участия в ингибировании окислительных процессов.

Установлены значимые различия в показателях антиоксидантной активности в пробах молока № 1, 3, что обусловлено различными временными параметрами измерения АОА молока, эффектом замораживания пробы № 3 и гипотетическим увеличением в ней активности фермента ксантинооксидазы, катализирующей биохимические процессы, способствующие повышению антиоксидантной системы молока [12]. Пробу молока № 4 предварительно выдерживали в морозильной камере 40 сут и после размораживания подвергали гомогенизации при пониженной температуре 28–30 °С. Результаты исследования показали, что длительное хранение молока в условиях замораживания не повлияло на его исходную АОА, а гомогенизация этого молока при низких температурных режимах в интервале давлений 12,5–21 МПа не привела к повышению АОА. Можно предположить, что в процессе длительного хранения (40 сут) молока при температуре минус 16–20 °С происходит инактивация фермента ксантинооксидазы, изменяются условия протекания биохимических процессов.

Выводы. В результате проведенного исследования установлено, что:

- термомеханическое воздействие на молоко при давлении гомогенизации 12,5–21,0 МПа и температуре 38–40 °С приводит к изменениям титруемой и активной кислотности, окислительно-восстановительного потенциала, массовой доли белка, массовой доли кальция;
- замораживание молока при температуре минус 16–20 °С и хранение его перед гомогенизацией на протяжении 10–40 сут в морозильной камере не оказывают влияния на содержание водорастворимых антиоксидантов в исходном нативном молоке (пробы № 2, 4);
- гомогенизация предварительно замороженного молока (10 сут хранения в морозильной камере) при температуре 38–40 °С и давлении 12,5–21 МПа повышает его АОА (пробы № 2, 3);
- увеличение длительности хранения замороженного молока до 40 сут и последующая гомогенизация при температуре 28–30 °С не оказывают влияния на антиоксидантную активность (проба № 4);

На основании полученных данных можно заключить, что длительное воздействие отрицательных температур на молоко приводит к предположительной инактивации фермента ксантинооксидазы и замедлению окислительно-восстановительных процессов.

Литература

1. Шидловская В.П. Справочник технолога молочного производства: технология и рецептуры. Т. 10. Ферменты молока. СПб.: ГИОРД, 2006. 296 с.
2. Зенина Д.В. Влияние гомогенизации на степень использования составных частей молока при производстве творога // Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством: сб. науч. тр. / под ред. А.Г. Галстяна. М.: Изд-во ВНИМИ, 2020. Вып. 1. С. 193–198. DOI: 10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-193-198.
3. Demott B.J., Praepanitchai O.A. Influence of storage, heat, and homogenization upon xanthine oxidase activity of milk // Journal of Dairy Science. 1978. Vol. 61 (2). P. 164–167. DOI: 10.3168/jds. S0022-0302(78)83573-5.

4. *Harrison R.* Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles // *International Dairy Journal*. 2006. Vol. 16 (6). P. 546–554. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.08.016.
5. *Silanikova N., Shapiro F.* Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: Physiological and technological implications // *International Dairy Journal*. 2007. Vol. 17, Iss. 10. P. 1188–1194.
6. *Барановский Н.В.* Гомогенизация молока. URL: <https://milklife.by/gomogenizatsiya-moloka>.
7. *Zikakis J.P., Wooters S.C.* Activity of xanthine oxidase in dairy products // *Dairy Sci*. 1980. Vol. 63 (6). P. 893–904.
8. *Oztuk G., Shah I.M., Mills D.A., German J.B.* et al. The antimicrobial activity of bovine milk xanthine oxidase // *International Dairy Journal*. 2020. Vol. 102. P. 104581.
9. *Harrison R.* Enzymes Indigenous to milk Xanthine Oxidoreductase // *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. 2011. P. 324–326.
10. *Rashidinejad A., Birch J.* Xanthine Oxidase in Dairy Foods // *Encyclopedia of Food Chemistry*. 2019. P. 374–380.
11. *Olsen K., Kristensen D., Rasmussen J.T., Skibsted L.H.* Comparison of the effect of high pressure and heat on the activity of bovine xanthine oxidase // *Milk Science International*, Vol. 59, 2004, P. 411–413.
12. *Добриян Е.И.* Антиоксидантная система молока // *Вестник ВГУИТ*. 2020. Т. 82, № 2 (84). С. 101–106. DOI: 10.20914/2310-2020-2-101-106.
3. *Demott B.J., Praepanitchai O.A.* Influence of storage, heat, and homogenization upon xanthine oxidase activity of milk // *Journal of Dairy Science*. 1978. Vol. 61 (2). P. 164–167. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(78)83573-5.
4. *Harrison R.* Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles // *International Dairy Journal*. 2006. Vol. 16 (6). P. 546–554. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.08.016.
5. *Silanikova N., Shapiro F.* Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: Physiological and technological implications // *International Dairy Journal*. 2007. Vol. 17, Iss. 10. P. 1188–1194.
6. *Барановский Н.В.* Гомогенизация молока. URL: <https://milklife.by/gomogenizatsiya-moloka>.
7. *Zikakis J.P., Wooters S.C.* Activity of xanthine oxidase in dairy products // *Dairy Sci*. 1980. Vol. 63 (6). P. 893–904.
8. *Oztuk G., Shah I.M., Mills D.A., German J.B.* et al. The antimicrobial activity of bovine milk xanthine oxidase // *International Dairy Journal*. 2020. Vol. 102. P. 104581.
9. *Harrison R.* Enzymes Indigenous to milk Xanthine Oxidoreductase // *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. 2011. P. 324–326.
10. *Rashidinejad A., Birch J.* Xanthine Oxidase in Dairy Foods // *Encyclopedia of Food Chemistry*. 2019. P. 374–380.
11. *Olsen K., Kristensen D., Rasmussen J.T., Skibsted L.H.* Comparison of the effect of high pressure and heat on the activity of bovine xanthine oxidase // *Milk Science International*, Vol. 59, 2004, P. 411–413.
12. *Добриян Е.И.* Антиоксидантная система молока // *Вестник ВГУИТ*. 2020. Т. 82, № 2 (84). С. 101–106. DOI: 10.20914/2310-2020-2-101-106.

Literatura

1. *Shidlovskaya V.P.* Spravochnik tehnologa molochnogo proizvodstva: tehnologiya i receptury. T. 10. Fermenty moloka. SPb.: GIOR, 2006. 296 s.
2. *Zenina D.V.* Vliyanie gomogenizatsii na stepen' ispol'zovaniya sostavnykh chastej moloka pri proizvodstve tvoroga // *Aktual'nye voprosy molochnoj promyshlennosti, mezhotraslevye tehnologii i sistemy upravleniya kachestvom: sb. nauch. tr. / pod red. A.G. Galstyana*. M.: IZD-VO VNIMI, 2020. Vyp. 1. S. 193–198. DOI: 10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-193-198.

Выражаем благодарность И.С. Красновой за участие в определении АОА.