

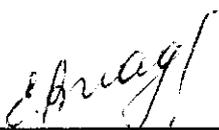
ИННОВАЦИОННЫЙ ЕВРАЗИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МАГИСТРАТУРА

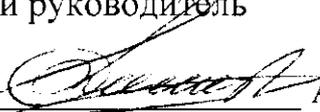
Кафедра «Прикладная биотехнология»

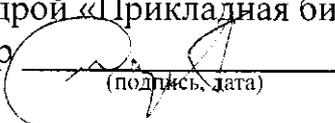
Магистерская диссертация

**ИЗУЧЕНИЕ ГИДРАТАЦИОННЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ
НАЦИОНАЛЬНЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

6N0701 «Биотехнология»

Исполнитель  Е.В. Никишкова
(подпись, дата)

Научный руководитель
Профессор, д-р техн.наук  А.Ю. Камербаев
(подпись, дата)

Допущена к защите:
Зав. кафедрой «Прикладная биотехнология»
профессор  М.С. Омаров
(подпись, дата)

Павлодар, 2008

Содержание

Введение	
1 Литературный обзор	7
1.1 Влагосодержание пищевых продуктов	7
1.1.1 Активность воды и ее роль в оценке качества пищевых продуктов	7
1.1.2 Изотерма сорбции влаги	14
1.1.3 Микробиологическая порча	16
1.2 Окисление липидов	19
1.2.1 Механизм самоокисления липидов	20
1.2.2 Липолиз в молочных продуктах	23
1.3 Микробиология производства кисломолочных продуктов	24
1.3.1 Биотехнологические аспекты производства йогуртов	25
1.3.2 Влияние условий производства	26
1.4 Теория гидратации	29
2 Методы и результаты экспериментальных исследований	32
2.1 Регулирование активности воды йогуртного продукта	32
2.2 Исследование показателей липидного окисления	41
2.2.1 Определение титруемой кислотности	41
2.2.2 Определение перекисного числа	48
2.2.3 Статистическая обработка экспериментальных данных	53
2.3 Исследование процессов микробиологической порчи	56
3 Выводы	61
4 Заключение	65
Список использованных источников	66
Приложение	

Нормативные ссылки

ГОСТ 25794.1-83 Реактивы. Методы приготовления титрованных растворов.

ГОСТ 27025-86 Реактивы. Общие указания по проведению испытаний.

ГОСТ 4919.1-77, 4919.2-77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов и буферных растворов.

ГОСТ 4517-87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе.

ГОСТ 61-75 Реактивы. Кислота уксусная.

ГОСТ 2184-77 Кислота серная. Технические условия.

ГОСТ 4204-77 Реактивы. Кислота серная.

ГОСТ 42-32-74 Реактивы. Калий йодистый.

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 12433-83 Изооктаны эталонные. Технические условия.

ГОСТ 27068-86 Реактивы. Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат).

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные.

ГОСТ 4.180-85 СПКП. Меры массы. Номенклатура, показатели.

ГОСТ 1770-74Е Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки.

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия.

ГОСТ 17206-96 Агар микробиологический. Технические условия.

ГОСТ 27134-86 Аппараты и установки сушильные. Классификация.

ГОСТ 29112-91 Среды питательные плотные. Общие технические условия.

Обозначения и сокращения

- a_w – активность воды, доли ед.;
- f – фугитивность (летучесть) вещества, Па;
- f_s – фугитивность вещества в стандартном состоянии, Па;
- P – парциальное давление водяного пара над поверхностью продукта, Па;
- P_s – давление насыщенного пара над чистой водой, Па;
- W_p – равновесная относительная влажность, %;
- P_m – парциальное давление пара у поверхности продукта, Па;
- P_n – парциального давления пара в воздухе, Па;
- P_h – давление насыщенного пара при данной температуре, Па;
- ϕ – относительная влажность воздуха, %;
- ω – концентрация раствора, % вес.;
- m_b – масса вещества, г;
- m_p – масса раствора, г;
- P_v – давления насыщенного водяного пара, Па;
- C – точная концентрация раствора, моль/дм³;
- C_1 – заданная концентрация вещества в растворе, моль/дм³;
- K – коэффициент поправки;
- V – объем раствора, см³;
- F – фактор раствора;
- m – масса продукта, г;
- Π – перекисное число, %;
- \bar{X} – средняя величина;
- $x_1, x_2 \dots$ – значения отдельных измерений;
- n – общее число случаев;
- σ – среднее квадратическое отклонение;
- t – критерию t-Стьюдента;
- m' – ошибка средней величины;
- n' – число степеней свободы;
- v – относительная скорость процесса.

Введение

Актуальность темы исследования:

Гидратация компонентов пищевых продуктов обуславливает его реологические и другие физико-химические характеристики, вследствие чего наиболее распространенным случаем порчи пищевых продуктов является изменение содержания влаги (потеря влаги, увеличение влажности или миграция влаги). Перенос влаги происходит под воздействием градиента химического потенциала, характеризующегося показателем активности воды. Стабильность и сроки хранения пищевых продуктов существенно зависят от содержания влаги, так как это напрямую влияет на скорость реакций, ухудшающих качество пищевых продуктов.

Наиболее близкими по тематике и совокупности существенных признаков к магистерской диссертации известны следующие работы:

1) Патент G01N33/04 «Способ определения срока годности пищевых продуктов», применяемый в пищевой промышленности, в частности при определении срока годности молочных продуктов. Способ заключается в том, что проводят исследование образцов пищевого продукта, изучают показатели окислительной порчи жировых компонентов и по полученным данным определяют срок годности пищевого продукта. В качестве показателей окислительной порчи определяют (фотометрически) содержание альдегидов и/или кетонов в образце пищевого продукта. Дополнительно рассчитывают общую скорость реакции окисления жира по кинетическому уравнению при заданной температуре хранения и время, оставшееся до истечения срока годности проверяемого продукта при определенных условиях хранения.

2) Способ определения срока хранения молочных продуктов («Методы анализа молока и молочных продуктов» Г.С. Инихов, Н.П. Брио – Определение перекисного числа: изд-во «Пищевая промышленность», М., 1971), включающий измерение в течение времени хранения в пищевом продукте концентрации образующихся и разлагающихся перекисных соединений и определение перекисного числа, по величине которого судят о качестве пищевого продукта и сроке его хранения.

3) Способ определения срока годности пищевых продуктов («Гигиеническая оценка сроков годности пищевых продуктов», Методические указания МУ 4.2.727-99-Мин.Здрав.РФ 1999г.), включающий отбор проб образцов пищевых продуктов, микробиологические и физико-химические исследования образцов в динамике хранения при заданных температурах, изучение изменения величин показателей окислительной порчи жирового компонента пищевых продуктов и определение по полученным данным их срока годности.

В результате проведенного патентного поиска (глубина по 2008 год) не выявлено аналогов представленной темы научно-исследовательской работы.

В связи с этим, изучение поведения влаги в биологических системах остается актуальной задачей.

Цели и задачи исследования:

Целью данного исследования является изучение динамики влияния активности воды йогуртных продуктов на интенсивность протекания химических и микробиологических процессов, вызывающих их порчу.

В связи с намеченной целью было поставлено несколько задач:

- 1) осуществление системы регулирования активности воды йогуртных продуктов;
- 2) исследование изменения влагосодержания йогуртных продуктов в процессе десорбции;
- 3) определение зависимости активности воды йогуртных продуктов на скорость протекания окислительных процессов, в частности окисления липидов, характеризующихся значениями таких показателей, как кислотность и перекисное число пищевого продукта;
- 4) установление характера влияния изменения активности воды йогуртных продуктов на интенсивность развития микробиологической порчи продукта, определяемой развитием плесеней и бактерий;

1 Литературный обзор

1.1 Влагосодержание пищевых продуктов

1.1.1 Активности воды и ее роль в оценке качества пищевых продуктов

Термин "активность воды" (англ. "water activity" - a_w) впервые был введен В.И. Скоттом в 1952 г., который доказал, что существует зависимость между состоянием воды в продукте и ростом микроорганизмов в нем. С этого времени a_w стала важнейшим параметром в пищевой промышленности.

С помощью этого показателя производят оценку степени участия воды в различных химических, биохимических и микробиологических реакциях, протекающих в продукте, как в процессе изготовления, так и в процессе его хранения: окисление липидов, ферментативную и неферментативную активность, гидролитические реакции, развитие микроорганизмов.

Само определение активности рассматривается как отношение фугитивности f (летучести) вещества в некотором состоянии к его фугитивности f_s в каком-либо состоянии, принятом за стандартное:

$$a_w = f / f_s. \quad (1.1)$$

При рассмотрении водных пищевых сред под фугитивностью вещества понимается некоторая величина парциального давления пара над продуктом. Если за стандартное состояние принять давления пара над чистым растворителем (дистиллированной водой) отношение для a_w примет вид:

$$a_w = P / P_s, \quad (1.2)$$

где P - парциальное давление водяного пара над поверхностью продукта, Па;

P_s - давление насыщенного пара над чистой водой при температуре продукта, Па.

Значения a_w находятся в диапазоне от 0,00 (абсолютная сухость) до 1,00 (дистиллированная вода). Таким образом, можно измерить значения активности воды для конкретных видов продуктов.

Так как величина a_w носит термодинамический характер, т. е. характеризует равновесное давление паров воды при определенной температуре, для практических целей предпочтительнее преобразовывать значение a_w в относительную влажность:

$$a_w = W_p / 100, \quad (1.3)$$

где W_p - равновесная относительная влажность, %.

Если давление водяного пара в продукте и окружающем воздухе одинаково, то они находятся в равновесии, но эта система не статическая, а динамическая, в которой потеря воды продуктом компенсируется равным ее количеством, поступающим из окружающей среды. Когда пищевой продукт оказывается в условиях, близких к равновесному состоянию, степень воздействия на продукт будет определять защитная упаковка и ее барьерные свойства. Вторым фактором является внешняя среда, в которой находится упаковка и содержащийся в ней продукт. В условиях пониженной влажности продукт может терять влагу, а при повышенной влажности он будет ее аккумулировать. Если влажность продукта и окружающей среды одинакова, никаких изменений во влагосодержании происходить не будет в виду равновесия влажности внутри упаковки и окружающей воздушной среды.

Изменение влагосодержания пищевых продуктов негативно влияет на их качество и сроки хранения. При этом продукты теряют требуемые текстурные характеристики и также претерпевают другие изменения. Лабильные пищевые вещества, такие как витамины и натуральные пигменты (например, хлорофилл) быстрее окисляются при хранении в условиях пониженной влажности. С другой стороны, при чрезмерном повышении содержания влаги значительно возрастает скорость ферментативного гидролиза и усиливается неферментативное потемнение по типу реакции Майяра.

Содержание влаги в готовом продукте может незначительно отличаться от оптимального уровня, обеспечивающего максимальный срок хранения. Даже незначительные колебания температуры при хранении пищевых продуктов с умеренным содержанием влаги создают условия для локального повышения в них влагосодержания. Области повышенной влажности могут стать участками развития микробиологической порчи (например, участком повышенной обсемененности бактериями, инфицирующими пищевой продукт или вырабатывающими различного вида токсины).

Любой созданный по рецептуре или натуральный пищевой продукт характеризуется некоторым уникальным значением a_w , при котором его текстура будет оптимальной. Изменения в рецептуре могут влиять на a_w , особенно если эти изменения касаются жидких продуктов. Например, добавление в качестве подсластителя сахарозы снижает a_w продукта. При внесении моносахаридов (например, глюкозы или фруктозы) a_w снижается почти в два раза, поскольку в единице массы глюкозы содержится в 1,9 раза больше молекул по сравнению с единицей массы сахарозы.

По величине активности воды выделяют следующие виды пищевых продуктов:

- продукты с высокой влажностью ($a_w = 1,0 \div 0,9$);
- продукты с промежуточной влажностью ($a_w = 0,9 \div 0,6$);
- продукты с низкой влажностью ($a_w = 0,6 \div 0,0$).

Если упаковать продукты с различными значениями a_w , то она примет некоторое промежуточное значение. При этом содержание влаги ни в одном из продуктов не будет находиться на оптимальном уровне.

В некоторых случаях даже незначительные изменения общего влагосодержания приводят к неприемлемости продукта для потребителя. В

качестве примеров можно привести грибы сублимационной сушки или сухой томатный порошок, которые становятся некондиционными уже при незначительном увеличении влажности.

Значительное количество пищевых продуктов с умеренным содержанием влаги (*Intermediate Moisture Foods, IMF*) характеризуется пороговым значением активности воды, оптимальным (или близким к оптимальному) для роста микроорганизмов. Из-за угрозы пищевых отравлений зависимость между содержанием влаги и микробиологической порчей пищевых продуктов исключительно важна. Заражение пищевых продуктов *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Escherichia spp.*, *Vibrio spp.*, *Salmonella spp.* и другими микроорганизмами влечет за собой расстройства желудочно-кишечного тракта. Пищевые интоксикации, вызываемые секретами таких микроорганизмов, как *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus spp.* и *Bacillus cereus* представляют серьезную проблему, иногда с летальным исходом. Многие плесени продуцируют крайне токсичные вещества с тяжелыми мутагенными, нейротоксичными, эстрогенными и аллергическими последствиями.

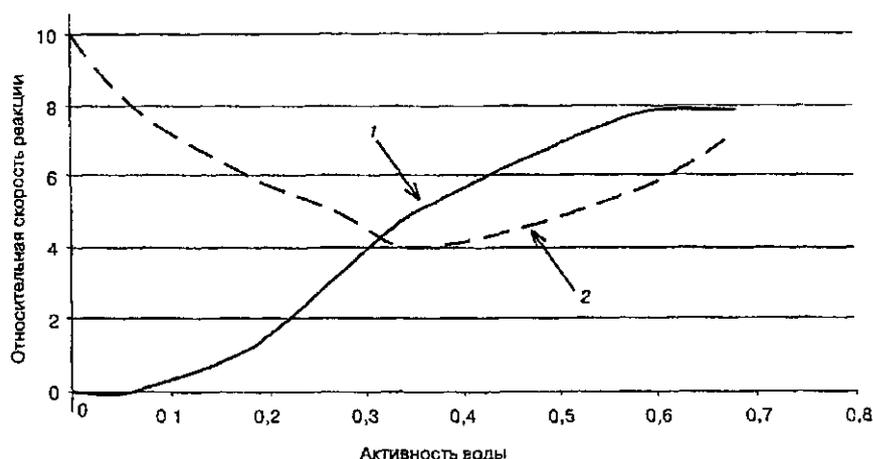
Активность воды продукта оказывает влияние на некоторые токсикогенные микроорганизмы. Разработчики и производители продукта должны знать об этих пагубных эффектах и вводить жесткий контроль содержания влаги, обработки продукта и его упаковки.

При хранении в домашних условиях или в условиях промышленного хранения и сбыта продукты подвергаются воздействию переменных температур. Воздух в упаковке содержит значительно больше влаги при повышенных температурах (46 г/м^3 при $37,8 \text{ }^\circ\text{C}$), чем при температурах холодильного хранения ($6,5 \text{ г/м}^3$ при $4,4 \text{ }^\circ\text{C}$). При повышении температуры содержимое упаковки будет выделять влагу, стремясь восстановить равновесие a_w между воздухом и содержимым упаковки. Соответственно, при охлаждении воздух будет отдавать часть влаги обратно продукту (скорее всего в форме конденсата). В продукте будет создаваться градиент a_w с высоким значением на поверхности и первоначальным значением a_w внутри продукта, поскольку в большинстве случаев в пищевых продуктах с умеренным содержанием влаги процесс диффузии протекает относительно медленно. Тонкий слой продукта с высоким значением a_w становится «плодородным» для роста микроорганизмов, будь то бактерии, дрожжи или плесени. Контролировать эту потенциальную микробиологическую проблему помогает полноценная система регулирования содержания влаги.

На рисунках 1.1 и 1.2 показан ряд других нежелательных для пищевых продуктов реакций и процессов, скорость которых при оптимальных значениях a_w снижается. Эти кривые являются обобщенными, но они представляют собой описание основных механизмов порчи.

Из рисунка 1.1 следует, что липидоксидазы значительно ускоряют ферментативное окисление ненасыщенных жиров в области значений a_w выше 0,3. С другой стороны, скорость неферментативного свободно-радикального окисления ненасыщенных жиров в интервале a_w от 0,0 до 0,35 снижается, а затем с увеличением a_w постепенно возрастает. Это объясняется, тем, что согласно экспериментальным наблюдениям, даже небольшого количества влаги (8-10%) достаточно для образования защитного монослоя на поверхности молекул

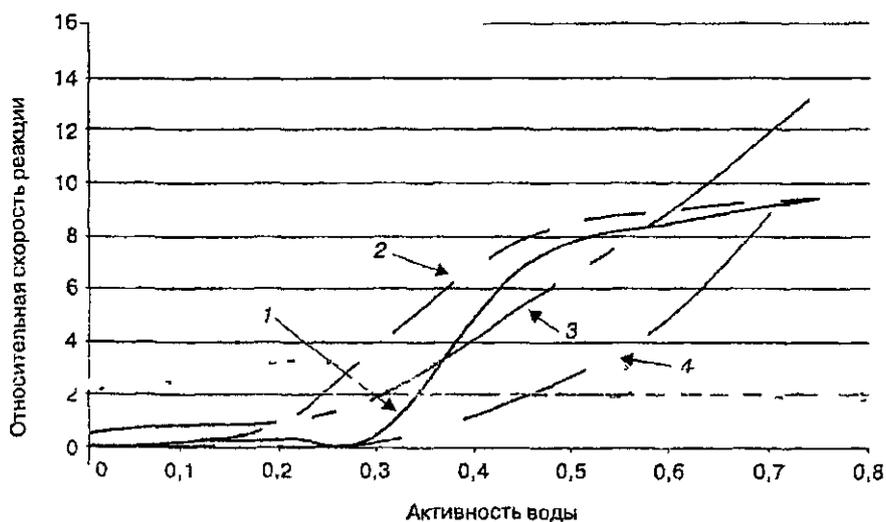
полисахаридов и белков, связанных с ненасыщенными жирами. Этот монослой выполняет роль барьера для свободных радикалов кислорода, атакующих систему двойных связей $C=C$.



1 – кривая ферментативного окисления; 2 – кривая свободнорадикального окисления.

Рисунок 1.1 - Влияние a_w на скорость ферментативного и свободнорадикального окисления.

На рисунке 1.2 отражена взаимосвязь между a_w продукта и скоростями некоторых других реакций, приводящих к его порче.



1 - гидролитическое прогоркание; 2 - реакция Майяра; 3 - потеря хлорофилла; 4 - потеря витаминов.

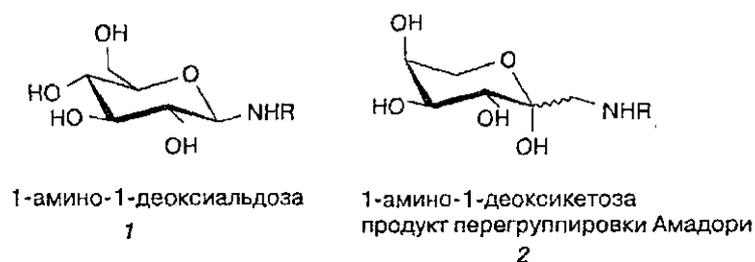
Рисунок 1.2 - Влияние a_w на скорость протекания реакций, приводящих к порче продукта во время хранения.

Гидролитическое прогоркание - это ферментативный гидролиз жирных кислот. Обычно эта реакция не имеет выраженных последствий за исключением

случаев, когда жирные кислоты (например, от масляной до лауриновой) имеют углеводородные радикалы короткой или средней длины. Масляная и «козьи» кислоты - каприновая (декановая), капроновая (гексановая) и каприловая - летучи и могут создавать ощущение побочных запахов даже в низких концентрациях (в некоторых случаях, например, в сырах, они считаются приемлемыми). Миристиновая и лауриновая жирные кислоты придают продуктам, в которых они образуются, нежелательный «мыльный» привкус.

Реакция неферментативного потемнения Майяра также является нежелательной ввиду изменения цвета пищевого продукта и возникновения в нем компонентов горечи. Реакция Майяра - сложная последовательность химических превращений. Скорость реакции Майяра возрастает при значениях активности воды a_w выше 0,25-0,3.

Неферментативное потемнение - это процесс, протекающий между белками (а точнее, аминокруппами белков) и редуцированными сахарами. Данный процесс включает в себя 3 стадии, первая из которых при взаимодействии аминокрупп (белков или аминокислот) с редуцированными углеводами приводит к образованию нестабильных оснований Шиффа (*Schiff*) – рисунок 1.3, а затем их трансформацию посредством перегруппировки Аматори (*Amadori*). Последующее расщепление, именуемое реакцией Штрекера (*Strecker*) – рисунок 1.4, и реакции полимеризации в конечном счете приводят к образованию летучих веществ и темных пигментов.



1 – основание Шиффа.

Рисунок 1.3 – Первый этап взаимодействия углеводов/аминокислота.

В результате пищевой продукт приобретает золотисто-коричневый цвет, иногда происходит изменение его текстуры. Наряду с этим реакция Майяра обычно приводит к потере продуктом пищевой ценности. В ходе неферментативного потемнения быстро расходуется лизин, активно реагирующий с редуцирующими сахарами. Было установлено, что скорость реакции Майяра зависит от показателя активности воды, причем максимальная скорость обычно достигается при a_w в диапазоне от 0,6 до 0,8 (вне этого диапазона скорость реакции снижена). Реакция Майяра редко протекает при низких значениях pH. Катализаторами являются также ионы металлов, например, меди и железа.

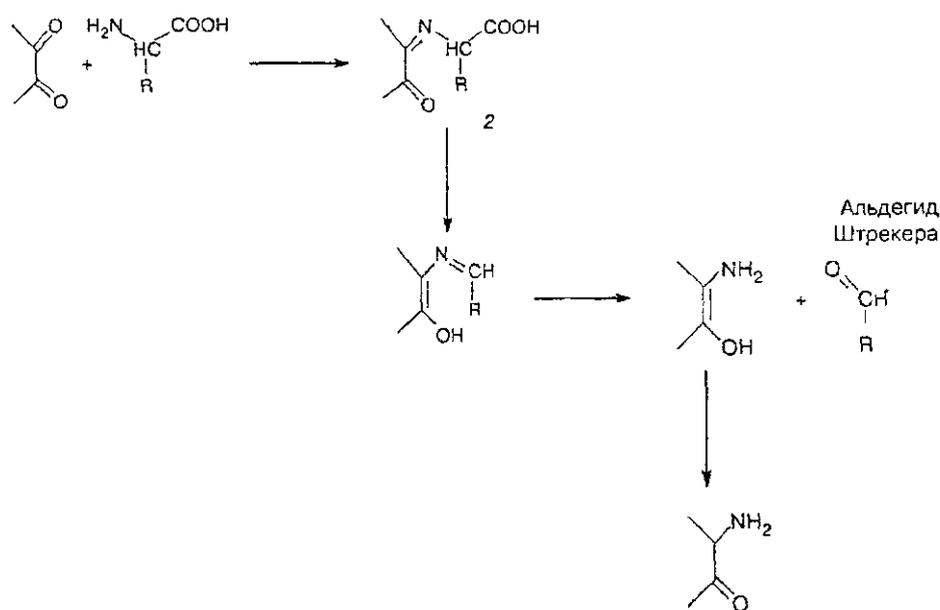


Рисунок 1.4 - Расщепление Штрекера.

Скорость потери натуральных красящих пигментов, приводящей к обесцвечиванию, пропорциональна увеличению a_w . Об этом свидетельствует кривая изменения содержания хлорофилла, который начинает разрушаться в области a_w около 0,35. Похожие кривые можно построить для каротиноидов, антоцианов и других натуральных красящих веществ растительного происхождения.

Витамины (в частности, аскорбиновая кислота) чувствительны к окислительным процессам, однако в области очень низких значений a_w они являются химически менее активными. Некоторые витамины, например, витамин А, под воздействием свободных радикалов кислорода подвержены процессам самоокисления.

Причиной порчи пищевых продуктов являются химические реакции или реакции деградации их химических компонентов, таких как белки (протеины), жиры (липиды) и углеводы. Скорость этих химических реакций зависит от воздействия активности воды, температуры хранения, pH, освещения или присутствия кислорода.

Для каждой реакции существуют оптимальные условия протекания. Например, ферментативная активность значительно снижена в продуктах с низкой активностью воды, особенно если a_w ниже уровня влаги мономолекулярного слоя. Продукты химических реакций влияют на цвет, вкус, аромат и текстуру пищевого продукта.

Расщепление белков включает реакции между белками и другими пищевыми ингредиентами, а также способствуют увеличению ферментативной активности. Белковая природа молекул ферментов является причиной каталитической активности, значительно увеличивая скорость химических реакций. Существует великое множество разновидностей ферментов (многие из

которых продуцируются микроорганизмами), взаимодействующих с различными ингредиентами пищевых продуктов.

К ферментам, способным взаимодействовать с другими белками, относится протеолитический плазмин, который способен выдерживать температуры пастеризации и вызывать расщепление молочных белков в молоке, коагуляцию и гелеобразование. Некоторые продуцируемые микроорганизмами протеазы способны разрушать белки молока. При снижении pH (например, в результате деятельности микроорганизмов) казеин молока постепенно агрегирует и осаждается.

Химические реакции, приводящие к деградации углеводов, включают реакции клейстеризации/ретроградации и потемнения. Рассматривавшаяся выше реакция Майяра является основной причиной деградации углеводов.

Причиной порчи жиров чаще всего являются реакции окисления под действием липолитических ферментов или ферментативный гидролиз. Одной из основных причин деградации жиров и масел является окисление липидов (окислительное прогоркание); оно происходит во многих липидсодержащих пищевых продуктах, включая орехи, сухофрукты, мясо, молочный порошок, кофе и маргарин. В ходе окисления липидов кислород взаимодействует с ненасыщенными жирами, что приводит к изменению цвета, образованию посторонних запахов и даже токсичных веществ. Одним из факторов, влияющих на скорость окисления, является количество и расположение двойных связей в жирных кислотах или триглицеридах. Кроме того, важно также учитывать воздействие света и тепла, поскольку они активируют процессы окисления. На скорость и полноту протекания окисления могут оказывать влияние микроэлементы, присутствующие в продукте (например, медь и железо катализируют окислительные реакции). Для предотвращения окисления в пищевые продукты иногда добавляют антиоксиданты (например, лимонную кислоту).

Одним из механизмов расщепления жиров является гидролитическое прогоркание, происходящее в результате химических реакций или под действием липолитических ферментов. Эти реакции протекают при участии воды и включают в себя расщепление молекул триглицеридов с одновременным образованием свободных жирных кислот с более короткими углеводородными остатками, что обуславливает понижение порога восприятия вкуса и аромата, появление посторонних привкусов и запахов или прогорклости. Большинство липолитических ферментов инактивируются при нагревании выше 60°C и сводятся к минимуму путем снижения содержания влаги (показателя активности воды).

Таким образом, контролируя функционально-технологические показатели в продукте и, в частности, показатель a_w , можно прогнозировать его способность к хранению, что позволит создать "карты стабильности" продуктов, и определить оптимальные условия их хранения.

1.1.2 Изотерма сорбции влаги

Пищевые продукты являются системами, в которых влага имеет различные формы связи с твердым скелетом. Ряд исследователей упрощает классификацию форм связи воды и предлагает различать две основные группы: *свободную* и *связанную воду*. В коллоидных системах свободная вода представляет собой «межмицеллярную» жидкость, обладающую известными свойствами воды. Связанная вода, особо прочно адсорбированная на поверхности «мицелл» отличается рядом особенностей - она труднее испаряется, является плохим растворителем и может находиться под повышенным давлением, обусловленным молекулярным силовым полем.

Многие продукты питания являются гигроскопичными и находятся в состоянии равновесия с относительной влажностью в окружающей атмосфере. С повышением относительной влажности повышается содержание влаги в пищевом продукте, а с понижением относительной влажности уменьшается и количество влаги.

Если продукт питания находится в герметически закрытом контейнере, то он будет либо получать влагу, либо терять её до тех пор, пока не будет достигнуто равновесие с воздушным пространством. *Равновесная относительная влажность* – это атмосферная влажность, при которой влажность продукта сохраняется неизменной.

Изменение влагосодержания пищевых продуктов негативно влияет на их качество и сроки хранения, при этом продукты теряют требуемые текстурные характеристики. Лабильные пищевые вещества, такие как витамины и натуральные пигменты быстрее окисляются при хранении в условиях пониженной влажности, а чрезмерное повышение содержания влаги в продукте значительно увеличивает скорость ферментативного гидролиза и неферментативного потемнения по типу реакции Майяра.

Процессы, происходящие в продукте во время хранения (например, кристаллизация сахара), сопровождаются высвобождением воды, что вызывает увеличение активности воды a_w продукта, хотя общее содержание влаги остается по существу постоянным. Значительная часть сахарозы кристаллизуется, поэтому при составлении рецептуры необходимо вводить дополнительные ингредиенты, подавляющие кристаллизацию. Эту роль успешно выполняют моносахариды – например, глюкоза или кукурузный сироп.

В условиях пониженной влажности продукт теряет влагу, а при повышенной влажности аккумулирует ее, образуя область, в которой может происходить развитие микробиологической порчи, например усиленной обсемененности бактериями, инфицирующими пищевой продукт или вырабатывающими различного вида токсины [1].

Таким образом, взаимодействие влажного материала с окружающей средой может происходить в двух направлениях:

1) если парциальное давление пара у поверхности продукта P_m больше парциального давления пара в воздухе P_n ($P_m > P_n$), то происходит процесс испарения (десорбция);

2) если $P_m < P_n$, то продукт увлажняется в результате поглощения пара из окружающего воздуха (сорбция).

В результате этого взаимодействия, когда P_m и P_n станут равны, наступает состояние динамического равновесия.

Величина равновесной влажности W_p зависит от парциального давления пара в воздухе P_n или влажности воздуха [1]:

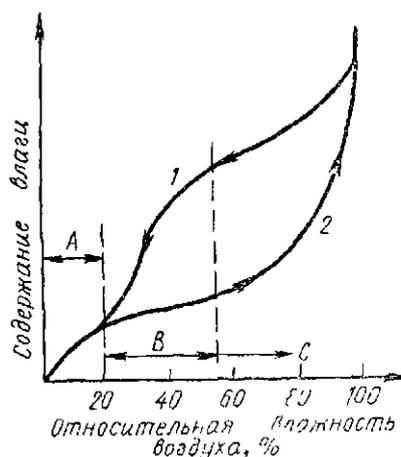
$$\varphi = (P_n/P_n) \cdot 100 \%, \quad (1.4)$$

где P_n - давление насыщенного пара при данной температуре, Па.

Так как в состоянии равновесия $P_m = P_n$, то влажность воздуха в таком состоянии равна относительной упругости пара у поверхности продукта:

$$\varphi = (P_m/P_n) \cdot 100 \%. \quad (1.5)$$

Равновесная влажность обычно исследуется тензиметрическим (статическим) методом. Помещая продукт в атмосферу воздуха с различной влажностью φ , можно в результате эксперимента получить зависимость $W_p = f(\varphi)$. Когда вся серия опытов проводится при одной и той же температуре продукта, равной температуре окружающего воздуха, то график, построенный в координатах φ и W , называют *изотермой*.



1 - десорбция, 2 – сорбция

Рисунок 1.5 - Типовые изотермы сорбции и десорбции пищевых продуктов, характеризующие явление гистерезиса.

Из рисунка 1.5 видно, что изотермы сорбции и десорбции не совпадают (за исключением крайних точек $\varphi = 0$ и $\varphi = 1$) и наблюдается явление сорбционного гистерезиса. Фигура, образованная обеими линиями (сорбции и десорбции), называется *петлей гистерезиса*. Гистерезис свидетельствует о том, что если материал после десорбции снова увлажняется, то для

получения той же равновесной влажности нужна более высокая влажность воздуха.

Изотерма сорбции влаги – это график зависимости активности воды от влагосодержания продукта, построенный для широкого диапазона значений активности воды. Обычно для построения графика используется несколько точек в диапазоне a_w от 0,05 до 0,95 [15]. На практике продукт, который подвергается воздействию влажности в таком широком интервале, исследуется на предмет возможных изменений, вызванных увеличением или уменьшением, начального уровня содержания влаги. Это дает возможность оценить, какое количество влаги может получить или потерять продукт без риска потери качества. Кривая изотермы сорбции влаги – основной источник информации при разработке продукта и его упаковки.

Анализ состояния воды в пищевых продуктах на основе изотерм сорбции дан Т. П. Лабузой (США). На рисунке 1.5 показаны примерные области состояния воды в пищевых продуктах: в области *A* вода прочно связана в мономолекулярном слое и недоступна для реакции; область *B*, в которой степень связывания уменьшается (это подтверждается измерениями ядерного магнитного резонанса), и область *C*, в которой вода доступна для реакций, легко замораживается и имеет давление пара, равное давлению пара свободной воды.

Интерпретация изотерм имеет неопределимо важное значение, поскольку знание ее характера необходимо для выбора наилучшего метода внешнего воздействия на материал (продукт).

1.1.3 Микробиологическая порча

Порча пищевых продуктов и напитков - это результат активной деятельности разнообразных микроорганизмов. Одним из последствий роста микроорганизмов в пищевых продуктах является изменение рН, образование токсичных соединений, газообразование, образование слизи и появление посторонних привкусов и запахов.

Микробиологическая порча является главной проблемой так называемых «портящихся продуктов» - свежих фруктов, овощей, мяса, птицы, хлебобулочных изделий, молока и соков. К микроорганизмам, способным вызывать порчу пищевых продуктов, относятся бактерии, грибы, плесени и дрожжи, вирусы и микопаразиты. Рост большинства микроорганизмов можно предотвратить или замедлить посредством контроля их начального содержания, контроля температуры хранения, снижения активности воды и рН, применения консервантов и использования соответствующей упаковки. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов являются причиной порчи пищевых продуктов, а некоторые из них при употреблении испорченных продуктов в пищу могут стать причиной тяжелых заболеваний и даже летального исхода.

Существует множество видов бактерий, способных размножаться и вызывать порчу различных пищевых продуктов. Бактерии - одноклеточные организмы размером 1-5 мкм. Их форма может быть круглой, спиральной или палочковидной; размножаются они делением на две части. Бактерии,

способные вызывать пищевые заболевания, включают *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio spp.* и другие. Многие виды бактерий вызывают порчу пищевых продуктов, но не являются болезнетворными.

Дрожжи могут вызывать порчу пищевых продуктов, но могут также использоваться в различных процессах брожения. Дрожжи - это одноклеточные грибы размером 3-5 мкм круглой или цилиндрической формы. Они размножаются почкованием или делением на две части. Важнейшими видами пищевых дрожжей являются *Candida spp.*, *Dekkera spp.*, *Saccharomyces spp.* и *Zygosaccharomyces spp.*

Плесени - другой вид грибов с клетками более крупного размера (30-100 мкм), которые образуют цепочки и «ветви». Плесени бывают различной формы, размера и цвета, и когда они образуют разветвленную структуру, их можно видеть невооруженным глазом. Размножаются плесени спорами половым или бесполом способом. К важнейшим плесневым грибам, вызывающим порчу пищевых продуктов, относятся *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* и *Rhizopus spp.*

Микроорганизмы попадают в пищевой продукт на любой стадии технологической цепи - они могут быть заражены на ферме (молоко от инфицированных коров), конечным потребителем или на некоторой другой промежуточной стадии (например, в ходе производства, упаковки, сбыта). После попадания в пищевой продукт развитие микроорганизмов зависит от их вида, самого продукта и условий окружающей среды. Для роста любого вида микроорганизмов необходимы специфические условия, к которым относятся наличие питательных веществ, активность воды, температура, pH и присутствие кислорода. Кроме того, очень важно, предусмотрено ли в технологии производства применение противомикробных препаратов.

Каждый из упомянутых факторов определяет, какие из попавших в продукт микроорганизмов способны к размножению. В настоящее время a_w рассматривается как наиболее важный фактор, управляющий развитием микрофлоры. Действительно, ни один из видов микроорганизмов не может размножаться, если a_w ниже 0,6. С другой стороны, почти все виды микроорганизмов способны к размножению, если a_w выше 0,95. Большая часть бактерий не размножается при a_w ниже 0,91, хотя существуют галофильные бактерии, способные размножаться при более низких значениях a_w (до 0,75). Большинство видов дрожжей не может размножаться при a_w ниже 0,88, однако некоторые осмофильные дрожжи способны к размножению при a_w выше 0,6. Для большинства плесеней пороговое значение a_w лежит ниже 0,8, но некоторые ксерофильные виды плесеней способны расти при a_w выше 0,65 [15].

Еще одним фактором, влияющим на рост микроорганизмов, является температура. В зависимости от температуры хранения продуктов рост микроорганизмов может быть быстрым, медленным, прекратиться или вызывать их гибель. В зависимости от температур активного роста микроорганизмы подразделяются на три основных класса. *Мезофилы* - организмы, активно размножающиеся при температуре от 30 до 40°C, однако они могут также умеренно размножаться в интервале температур примерно от 10 до 45°C.

Психротрофы любят более низкие температуры и активно размножаются при температурах от 20 до 30°C и умеренно - при низких температурах (ниже 7°C). *Термофилы* предпочитают повышенные температуры; активно размножаются при температурах от 55 до 65°C и умеренно - при температурах от 45 до 55 °C. При температурах около 60 °C некоторые микроорганизмы начинают погибать, и чем температура выше, тем быстрее они гибнут [15].

На развитие микроорганизмов также влияет содержание питательных веществ в пищевом продукте. Для размножения им необходима вода, источники углерода и азота для пополнения энергии, определенные витамины и минеральные вещества. Особенно это касается бактерий, меньше - плесеней, а дрожжи в этом отношении занимают промежуточное положение. Некоторые ингредиенты пищевых продуктов могут оказывать на микроорганизмы негативное воздействие, подобное действию противомикробных веществ. Некоторые из них являются естественными компонентами пищевых продуктов, другие добавляют в качестве консервантов. К таковым относятся, например, лизоцим, рибофлавины, антоцианины и тимол.

Газовый состав окружающей пищевой продукт среды может замедлить развитие микроорганизмов. При повышении концентрации двуокиси углерода (более 10%) создается тенденция к замедлению роста плесеней и других видов микроорганизмов. Для изменения воздушной среды при хранении и замедления развития микрофлоры часто используют упаковку продуктов в модифицированной или регулируемой газовой среде. Процессы консервирования увеличивают сроки хранения пищевых продуктов, инактивируя микроорганизмы или изменяя состояние продукта и условия внешней среды таким образом, чтобы остановить или замедлить развитие микроорганизмов. Для консервирования пищевых продуктов применяют тепловую обработку. В последнее время получили распространение процессы, не связанные с теплообменом - обработка под высоким давлением, импульсным электромагнитным полем и облучение.

Тепловая обработка является, пожалуй, наиболее распространенным методом уничтожения микроорганизмов в пищевых продуктах. Пастеризация - это тепловая обработка, уменьшающая популяцию микроорганизмов, вызывающих порчу, и увеличивающая срок хранения продукта.

Микроорганизмы способны испортить пищевые продукты, химически реагируя с его компонентами. Кроме того, присутствующие в продукте некоторые патогенные микроорганизмы могут вызывать пищевые отравления, вырабатывая токсичные вещества. Легче всего воздействию микроорганизмов подвержены углеводы, поскольку в качестве источника энергии они обычно используют углерод. Простые сахара и небольшие молекулы углеводов обычно разлагаются быстрее, чем сложные, такие как целлюлоза и лигнин. Тем не менее целлюлоза может расщепляться микроорганизмами, продуцирующими целлюлолитические ферменты [15].

Белки пищевых продуктов также могут расщепляться микроорганизмами, продуцирующими протеазы. При этом происходят реакции дезаминирования с выделением аммиака или реакции декарбоксилирования с выделением углекислого газа. Конечными продуктами реакций распада белков являются также

органические кислоты, сероводород, меркаптаны и другие нежелательные соединения. Порча мяса и других высокобелковых продуктов обычно вызвана бактериями - *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* и *Flavobacterium spp.* Некоторые вырабатываемые ими ферменты довольно термостабильны и могут сохранять активность даже после пастеризации, вызывая, например, свертывание молока.

Труднее разлагаются микроорганизмами липиды. Для развития микрофлоры необходимо наличие в продукте некоторого количества влаги. Некоторые из них, например, *Pseudomonas spp.*, *Lactobadillus spp.*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus spp.* и *Saccharomyces spp.*, вырабатывают липазы, вызывающие гидролитическое прогоркание липидов. Гидролитическое прогоркание характерно для сырого мяса, рыбы, молока и молочных продуктов.

Из общего количества воды, содержащейся в пищевом продукте, микроорганизмы могут использовать для своей жизнедеятельности лишь определенную "активную" ее часть.

1.2 Окисление липидов

Самыми лабильными макрокомпонентами пищевых систем являются липиды. В зависимости от степени ненасыщенности липиды сильно подвержены окислению, в результате которого формируется окислительная прогорклость. В этом случае пищевой продукт становится неприемлемым для потребителя. Образование постороннего привкуса в прогорклых пищевых продуктах можно почувствовать сразу, однако образование свободных радикалов в результате автокаталитического окисления вызывает другие негативные реакции, в том числе потерю витаминов, изменение цвета и распад белков.

Окисление липидов зачастую является определяющим фактором срока годности пищевых продуктов, вызывающим негативные изменения их органолептических свойств (вкус и аромат, цвет, текстура) и пищевой ценности, а также возможное образование токсичных продуктов окисления. На все эти показатели оказывает влияние степень липолиза, поскольку этот процесс является первой стадией деградации качества продукта, а ферменты (например, липоксигеназы) катализируют окисление липидов, взаимодействуя в основном или исключительно со свободными жирными кислотами.

Стабильность пищевого материала по отношению к липолитическому распаду - это показатель биохимической активности вовлеченных ферментов, кофакторов и липидных субстратов. Нерастворимые в воде липиды имеют тенденцию к агрегации, образуя граничный межфазный слой с водным окружением. Липазы и фосфолипазы имеют характерную особенность, связанную с их необычным поведением в этом водно-липидном слое. По этой причине чувствительность к липолизу и последующему окислению липидов также определяется физико-химическими свойствами этой уникальной двухмерной среды.

Гидролитические процессы в жирах протекают под влиянием воды и фермента липазы, которая содержится в жирах, а также появляется в результате жизнедеятельности микроорганизмов, развивающихся в жире. Процесс гидролиза идет ступенчато, т.е. сначала триглицерид переходит в диглицерид,

затем моноглицерид. При распаде моноглицерида образуются глицерин и свободные жирные кислоты.

Липазы (ацилглицерин-ацилгидролазы) в три-, ди- и моноацилглицеринах гидролизуют эфирные связи, высвобождая свободные жирные кислоты. Некоторые из них обладают более широкой специфичностью и гидролизуют также и другие эфирные связи. Липазы отличаются необычным поведением - они проявляют повышенную активность, когда липидные субстраты агрегируют и образуют межфазный водно-липидный слой.

Для активации связывания водно-липидного слоя некоторые липазы и фосфолипазы нуждаются во втором компоненте (колипазе или активаторе). Например, липопроотеинлипазы молока активны только в том случае, если триацилглицеридный субстрат образует комплекс с липопроотеиновым компонентом сыворотки.

В формировании прогорклости решающее значение имеет степень ненасыщенности жирных кислот, входящих в состав липидов. Как правило, чем больше фрагментов ненасыщенных молекул, тем выше их чувствительность к окислению.

На скорость окисления липидов влияют несколько факторов. Существенное влияние оказывают наличие кислорода и температура. Огромную роль играет также наличие воды. Очень низкие значения активности воды обуславливают высокую скорость окисления липидов. При определении сроков хранения пищевых продуктов, содержащих липиды, особенно в случае высоких концентраций ненасыщенных жирных кислот, необходим учет механизмов и скорости реакций окисления основных из них. Для измерения содержания летучих веществ применяют ряд методов, в том числе определение перекисного числа.

1.2.1 Механизм самоокисления

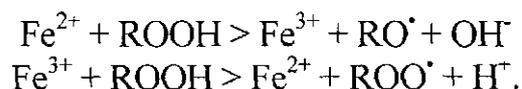
Окислительные процессы - это глубокий распад с образованием перекисей альдегида, кетона, оксикислот и других соединений. Жиры, вследствие особенностей их химической структуры, легко подвергаются автоокислению (самоокислению) молекулярным кислородом. Согласно теории Н. Н. Семенова, этот процесс осуществляется по пути медленно развивающихся разветвленных цепных реакций.

В процессе автоокисления в первую очередь разрушаются полиненасыщенные жирные кислоты, самая активная часть триглицеридов и фосфолипидов.

Лецитин, кефалин являются наиболее неустойчивыми липидными компонентами молока и молочных продуктов. Они изменяются при гидролизе и окислении. Гидролиз их происходит при выработке и хранении сыра, масла и кисломолочных продуктов. Они гидролизуются под действием фосфолипидных микроорганизмов с образованием высокомолекулярных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, фосфотидных кислот, азотистых оснований и других соединений. Далее эти вещества могут вовлекаться в различные вторичные реакции. Так, ненасыщенные жирные кислоты окисляются

кислородом воздуха с образованием перекисных и карбонильных соединений, которые ухудшают органические свойства молочных продуктов. Азотистые основания под действием бактериальных ферментов распадаются до триметиламина, ацетальдегида и аммиака, влияющих на вкус и запах молочных продуктов. Для сыров, масла, кисломолочных продуктов гидролиз фосфолипидов нежелателен, так как он обуславливает появление прогоркания и других посторонних привкусов. При их выработке надо использовать бактериальные закваски с низкой фосфолипазной активностью.

Процесс окисления липидов и связанное с этим ухудшение качества пищевых продуктов обычно имеет некоторый индукционный период, характеризующийся постоянной низкой скоростью окисления, за которым следует стадия быстрого окисления. Продолжительность этого индукционного периода существенно сокращается низкими концентрациями металлов переменной валентности (прооксидантами), даже если они присутствуют в следовых количествах (< 1 ppm). Как катализаторы эти металлы особенно эффективны, если разложение гидропероксидов протекает по одноэлектронному механизму, например:



Эффективным механизмом антиокислительного воздействия является образование хелатных комплексов антиоксидантов с металлами. К таким антиоксидантам относятся лимонная, молочная и некоторые другие органические кислоты. Свой вклад в общий антиокислительный потенциал пищевого продукта вносят также восстановители (например, аскорбиновая кислота).

Присутствующие в пищевом продукте жировая и водная фазы обуславливают интенсивность процесса окисления путем воздействия на активность нативных антиоксидантов, а также посредством межфазного распределения про- и антиоксидантов.

Повышение температуры вызывает значительное сокращение периода индукции. В принципе, скорость окисления с ростом температуры возрастает экспоненциально. Температурную зависимость усложняют снижение растворимости кислорода в жидкости с повышением температуры и изменения фазового распределения антиоксидантов в случае присутствия нескольких фаз. Как правило, с увеличением температуры изменяется скорость реакции, которая лимитирует общую скорость процесса окисления.

Процесс самоокисления включает последовательность свободно-радикальных цепных реакций и имеет два основных периода (рисунок 1.6).

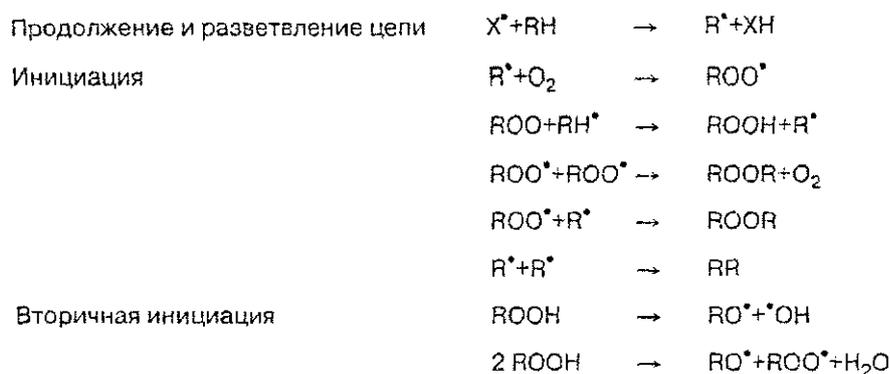


Рисунок 1.6 - Механизм процесса самоокисления.

Первый период (инициация) заключается в образовании липидных радикалов. Отрыв атома водорода активными частицами (например, гидроксильными радикалами) может привести к инициации (запуску процесса) окисления липидов.

После инициации, во втором периоде, происходят реакции продолжения окисления, в ходе которых одни липидные радикалы преобразуются в другие. Эти реакции обычно включают отрыв атома водорода от молекулы липида или присоединение атома кислорода к алкильному радикалу. Энтальпия этих реакций сравнительно ниже энтальпии реакций инициации, поэтому продолжение цепи окисления протекает быстрее реакций инициации.

Наиболее трудно протекает образование первого свободного радикала, поскольку оно требует значительной энергии для разрыва связей между атомами молекулы. Далее процесс окисления все усиливается и в него постепенно вовлекается огромное количество молекул. Чем больше ненасыщенных связей в жирowych кислотах, тем быстрее она подвергается окислению. Например, линолевая кислота подвергается в 10-12 раз быстрее, чем олеиновая. Насыщенные кислоты окисляются намного медленнее, но тоже могут переходить в гидроперекиси. Глубина и скорость окислительных процессов находятся в прямой зависимости от количества входящих в жиры глицеридов полипептидных жирных кислот, а также от интенсивности соприкосновения с воздухом и от температуры. О начале и глубине окисления судят по перекисному числу (%).

Алкоксильные радикалы, образующиеся при разложении гидропероксидов, могут распадаться с образованием летучих соединений (спиртов или альдегидов), которые уже не связаны с глицериновым каркасом и присутствуют в виде глицеридов жирных кислот. Образование низкомолекулярных спиртов и кетонов показано на рисунке 1.7.

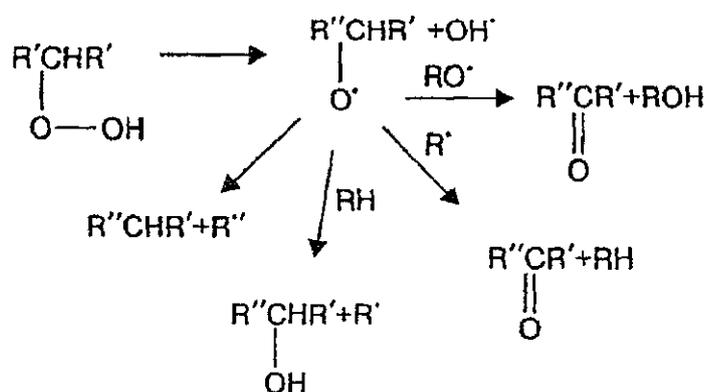


Рисунок 1.7 - Образование вторичных продуктов окисления при разложении гидропероксидов.

Присутствие в пищевом продукте полиненасыщенных жирных кислот проявляется в повышении скорости окисления липидов, а также в образовании летучих веществ различного рода.

1.2.2 Липолиз в молочных продуктах

Жировая фаза молока находится в плазме в виде дисперсии жировых шариков размером от 0,1 до 10 мкм. Средний размер жировых шариков составляет 3,5 мкм и зависит от породы коров, периода лактации, условий кормления животных.

В состав жирового шарика входит глицеридное ядро, окруженное липопротеиновой оболочкой. Ядро состоит преимущественно из триглицеридов (эфиров, трехатомного спирта+глицерина и монокарбоновых жирных кислот) и определяет размер (массу) жирового шарика. Жирные кислоты, входящие в состав триглицеридов, определяют физические свойства молочного жира. Толщина мембраны оболочки жирового шарика составляет 5-10 нм, она состоит из липопротеиновых комплексов, плотно прилегает к глицеридному ядру. На тонкой внутренней мембране оболочки адсорбирован внешний слой, состоящий из водорастворимых сферических липопротеидных мицелл.

В молочном жире преобладают насыщенные жирные кислоты (58-77%), наибольшая массовая доля при этом принадлежит пальмитиновой, миристиновой и стеариновой жирным кислотам. Полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахионовая) составляют 3-5% общей массы жирных кислот. Жирные кислоты этой группы характеризуются высокой биологической активностью - они участвуют в клеточном обмене веществ и обладают антисклеротическим действием; содержание низкомолекулярных жирных кислот (масляной, капроновой, каприловой), обладающих низкой энергетической ценностью и высокой усвояемостью, составляет в молочном жире 7,4-9,5% общей массы.

Сырое молоко содержит липопротеинлилазу и сложную смесь жирных кислот, этерифицированных преимущественно в триацилглицеридах. Этот «молочный липид» состоит из 2,6-6 % молока и свыше 80 % масла. Образующиеся в результате гидролиза масляная и капроновая кислоты, являются летучими и вызывают неприятный привкус (соответственно, вкус прогорклости и ноты «козьего» запаха). Тем не менее, несмотря на присутствие липопротеинлипазы, прогорклость лишь в незначительной степени индуцируется липолизом, так как жировые шарики молочного жира защищены мембраной. Эта мембрана состоит из глицеролипидов, фосфолипидов, холестерина и его эфиров, свободных жирных кислот, сквалена, каротиноидов и некоторых протеинов. Чтобы активировать липазу, необходимо связать ее с межфазным пограничным слоем. Для этого требуется апопротеин, который присутствует в сыворотке, но отсутствует в молоке. Тем не менее, любой фактор, действие которого изменяет или разрушает межфазный слой и нарушает структуру жировых шариков может привести к началу липолитической порчи, вызванной нативными ферментами, присутствующими в сыром молоке. Эти факторы необходимо принимать во внимание при внесении изменений в технологию молочного производства.

1.3 Микробиология производства кисломолочных продуктов

Техническое производство сквашенных или ферментированных молочных продуктов характеризуется некоторыми общими признаками. Цельное, обезжиренное свежее, а также сгущенное молоко нагревают для того, чтобы убить все или большую часть имеющихся микроорганизмов и инактивировать мешающие сквашиванию термолабильные ферменты молока. При этом диапазон термообработки простирается обычно от усиленной пастеризации до стерилизации. После охлаждения до температуры выращивания, которая должна соответствовать используемым микроорганизмам, производят инокуляцию молока соответствующей закваской и выращивание до тех пор, пока не будут достигнуты желаемая консистенция и вкусовые качества. Затем продукт охлаждают, после чего он готов к употреблению.

Кисломолочные продукты имеют большую ценность с точки зрения физиологии питания, поскольку молочнокислые бактерии, кроме сквашивания, вызывают еще слабый распад белка. Таким образом, человеческому организму предлагается уже частично обработанный, легкоусвояемый белок; доля свободных аминокислот повышается. Благодаря расщеплению и новому синтезу происходит перегруппировка витаминов, которая хорошо подходит к потребностям человека. Возникающая из лактозы молочная кислота способствует перистальтике кишечника и поглощению кальция; отмечается активизация обмена веществ.

Благодаря присутствию молочной кислоты кисломолочные продукты в значительной степени защищены от размножения патогенных микробов. Однако виды родов *Salmonella*, *Shigella*, *Brucella*, а также микробактерии и стафилококки, образующие энтеротоксины, выживают длительное время и являются потенциальными источниками заражения. Поэтому важной предпо-

сылкой производства всех кисломолочных продуктов является достаточная пастеризация перерабатываемого молока и предотвращение повторного загрязнения патогенными бактериями. Санитарно-показательными организмами являются энтеробактерии, в особенности колиформы.

Успех производства кисломолочных продуктов зависит от роста используемых микроорганизмов и безупречного прохождения процесса ферментации (гликолиз, ароматообразование, протеолиз). Нарушения роста микроорганизмов постоянно приводят к ухудшению качества. На рост и обмен веществ микроорганизмов влияет и в положительном и в отрицательном смысле ряд факторов, которые следует учитывать при получении продукции: свойства молока как сырья, обработка и приготовление молока, закваски, условия ферментации.

1.3.1 Биотехнологические аспекты производства йогуртов

Йогурт - один из кисломолочных напитков, известных с очень давних времен.

В начале XX в. промышленное производство йогурта в Европе переживало значительный подъем, после того как русский ученый М.И.Мечников попытался доказать, что микрофлора йогурта поселяется в кишечнике человека, предотвращает вредные процессы гниения в результате образования кислоты и способствует увеличению продолжительности жизни.

Свойства, микробиологические требования.

Основными компонентами в них являются фрукты, фруктовые соки и другие ароматизирующие вещества.

Важнейшими свойствами плотного йогурта являются однородная фарфороподобная, желеобразная консистенция.

Для изготовления йогурта используют метод быстрого сквашивания (примерно 3 ч при 40-45°C) после интенсивного нагревания, а также добавления сухого молока с применением заквасок для йогурта, состоящих из термофильных молочнокислых бактерий - *Sc. thermophilus* и *Lb. bulgaricus* - в качестве возбудителей брожения.

При строгом соблюдении цепочки холода, т. е. при температурах между 2 и 6 °C, становится возможным сохранять безупречные вкусовые качества в течение недели и дольше.

В результате использования концентратов, полученных ультрафильтрацией или обратным осмосом, появляются новые формы йогурта, в которых содержание лактозы понижено при одновременном повышенном содержании белка. Различия микрофлоры в этом продукте по сравнению с микрофлорой в обычно производимом йогурте после хранения в течение месяца при температурах 4 и 25°C сравнительно небольшие.

Обязательная микрофлора.

В качестве обязательной микрофлоры йогурт содержит симбиотически растущие штаммы *Lb. bulgaricus* и *Sc. thermophilus*, материнские закваски

которых на производстве обычно выращивают как смешанные закваски, реже как монокультуры обоих видов, и лишь затем добавляют в соответствующих условиях для производства йогурта. Преимущества отдельного выращивания культур состоят в возможности добиться равновесия между видами и, если необходимо, отбраковать одну из культур.

Преимущества смешанных заквасок заключаются в том, что совместный рост микроорганизмов йогурта представляет собой настоящий симбиоз. Образующая *Sc. thermophilus* муравьиная кислота необходима в качестве фактора роста для *Lb. bulgaricus*, в то время как последняя высвобождает необходимые аминокислоты для *Sc. thermophilus*. Нежелательны штаммы с сильной протеолитической активностью и штаммы с сильной гликолитической активностью (*Lb. bulgaricus*). Штаммы с незначительным образованием слизи, напротив, желательны, так как содействуют улучшению реологических свойств йогурта. У смешанных культур можно добиться равновесия между видами, соблюдая подходящие условия культивирования.

Посторонняя микрофлора.

Появлению сильного бактериального загрязнения, вызываемого спорообразующими бактериями, можно препятствовать, соблюдая безупречную производственную гигиену, что достигается интенсивной тепловой обработкой молока и быстрым гликолизом при изготовлении йогурта. Однако и небольшое повторное загрязнение отрицательно влияет на сохраняемость йогурта, в особенности в тех случаях, когда имеются недостатки в поддержании цепочки холода. Уже при температурах выше 5°C происходит заметный рост психротрофных микроорганизмов. В этом смысле следующие группы микроорганизмов необходимо рассматривать как организмы, ухудшающие качество или опасные:

- стафилококки (не размножаются, однако долго живут в йогурте);
- колиформы (часто выступают в качестве загрязняющих организмов, однако из-за быстрого отмирания не могут быть хорошими гигиеническими индикаторами);
- психротрофные бактерии (почти постоянно обнаруживаются в небольших количествах, однако редко переходят допустимые границы, имеет значение минимальное количество психротрофных бактерий в перерабатываемом молоке, поскольку их ферментативная активность может привести к выбраковке партий продукции);
- дрожжи, плесневые грибы (самые надежные индикаторы неудовлетворительных санитарных условий при производстве йогурта). Дрожжи и плесневые грибы чаще всего ведут к микробиологической порче, так как могут расти в кислой среде. Важнейшими представителями являются - *Tenutopsis*, *Saccharomyces* и *Geotrkham candidum*.

1.3.2 Влияние условий производства

При производстве йогурта микробиологические и технологические факторы заметно влияют на качество продукта. Необходимо принимать в расчет

изготовление мягкого, ароматного йогурта с кислотностью, не превышающей 100°Т.

При выборе сырого молока необходимо также следить за тем, чтобы оно не содержало антибиотики, так как *Sc. thermophilus* очень чувствителен к пенициллину, реагирует и на другие антибиотики. Действие антибиотиков в отличие от других факторов, сдерживающих ферментацию, не устраняется нагреванием молока.

Предварительная обработка молока включает обогащение сухими веществами, гомогенизацию (не обязательно) для улучшения консистенции и нагревание.

Повышение содержания сухих веществ, преимущественно казеина, в молоке имеет значение как для плотного, так и питьевого йогурта. Оно улучшает плотность или вязкость продукта, уменьшает тенденцию к выпадению сыворотки и способствует получению мягкого продукта. Стимулируется также рост микроорганизмов йогурта. Обычно молоко обогащают сухой массой, добавляя сухое обезжиренное молоко (распылительной сушки) в количестве 0,5-2,5 % (2 % у плотного йогурта и 1 % у питьевого йогурта). Добавляемое сухое молоко не должно содержать антибиотиков. Повышение содержания сухих веществ достигается также сгущением в выпарном аппарате или реже добавлением сгущенного молока. В плотном йогурте рекомендуется повышать содержание сухих веществ на 10-16 %, а в питьевого йогурте - на 20-26 %.

Тепловая обработка для производства йогурта преследует несколько целей:

- уничтожение первичной микрофлоры, за исключением спор, которые вследствие быстрого гликолиза не могут прорасти;
- улучшение молока как питательной среды для молочнокислых бактерий из-за незначительного расщепления молочных белков;
- образование ростовых веществ, например сульфгидрильных соединений;
- удаление воздуха;
- выпадение альбуминов и глобулинов (улучшается консистенция плотного йогурта и вязкость питьевого йогурта).

Кратковременное нагревание недостаточно для изготовления высококачественного продукта. Температура в процессе производства 70-135°С, при этом должно сохраняться определенное соотношение между временем и температурой: при 70°С длительность нагревания 60 мин и больше, а при 135 °С нагревание длится несколько секунд. Хорошие результаты в отношении плотности и незначительной тенденции к отделению сыворотки достигаются при температуре 90-95°С и нагревании в течение 5 мин; эта комбинация хорошо вписывается в непрерывный процесс производства. В Болгарии, где йогурту как основному продукту питания придается особое значение, гомогенизированное молоко пастеризуют до 88-92°С в течение 15-20 мин, причем выдерживание в ваннах и резервуарах сочетается с перемешиванием. После нагревания продукт быстро охлаждают до температуры ферментации.

Особое внимание необходимо уделять условиям ферментации, т. е. бродильно-техническому процессу молочнокислого сквашивания, поскольку здесь в первую очередь определяются вкусовые качества (кислотность, аромат, сохраняемость) йогурта. Ферментация охватывает все процессы, начиная от вне-

сения закваски и до хранения фасованного, охлажденного после инкубации до 2-6°C продукта.

Особое значение имеют условия заквашивания производственной закваской, количество закваски, температура и продолжительность инкубации, а также условия охлаждения. Ферментация должна производиться так, чтобы получался не слишком кислый, плотный или вязкий йогурт, имеющий типичный аромат, которому способствует присутствие ацетальдегида. Ароматообразование обуславливается участием бактерии *Lb. bulgaricus*, которая одновременно является и сильным образователем молочной кислоты.

Количество вносимой закваски может составлять 0,5-5%. В зависимости от активности закваски во всем этом диапазоне возможен нормальный процесс брожения. Следует учитывать, что слишком малое количество закваски обуславливает более длительное сквашивание молока микроорганизмом *Sc. thermophilus*, прежде чем будет достигнут оптимальный рост pH (5,5) для *Lb. bulgaricus*; результатом может быть и мягкий, но неароматный продукт. При слишком большой дозе закваски очень быстро достигается рост *Lb. bulgaricus* и ароматообразование, но увеличивается опасность переокисления. Поэтому рекомендуется придерживаться средних доз закваски (1,5-3 %), при которых подпороговое воздействие ингибиторов не сказывается так явно и сглаживаются естественные колебания в активности заквасок.

Предельные значения температур выращивания; применяемые при производстве йогурта, составляют 37 и 52°C. Более низкие температура, например до 42°C, способствуют появлению легких нетипичных напитков типа кислого молока, в то время как при температуре выше 45 °C появляются хотя и ароматные, но острокислые или горькие продукты.

Хорошим индикатором для определения окончания выращивания является значение pH. Выращивание должно оканчиваться при достижении изоэлектрической точки казеина, т.е. при pH 4,7-4,6. При продолжении выращивания при pH ниже 4,6 силы сцепления казеинового сгустка в результате воздействия тепла усиливаются и возрастает опасность отделения сыворотки. Йогурт охлаждают для того, чтобы сначала замедлить рост и гликолитическую активность молочнокислых бактерий и затем по возможности совсем приостановить эти процессы.

Достигнутое в конце выращивания значение pH недостаточно, чтобы получить у плотного йогурта необходимую плотность сгустка, а у питьевого необходимую вязкость. Поэтому условия охлаждения особенно важны для получения йогурта, сбалансированного по сквашиванию, плотности и ароматообразованию. Значение pH > 4,4 ведет в плотном йогурте к образованию мягкого сгустка, при pH < 4,0 возможны переокисление, горький вкус и отделение сыворотки. Лучшие свойства йогурт имеет при конечном значении pH 4,3-4,0. Охлаждение должно быть организовано так, чтобы можно было уменьшить pH на 0,3-0,6. Это означает, что как ускоренное, так и слишком медленное охлаждение действует отрицательно.

При охлаждении в ферментерах или в водяных банях (плотный йогурт) и охлаждении в пластинчатых холодильниках (питьевой йогурт) необходимо различать две фазы: предварительное охлаждение до 20°C для предотвращения

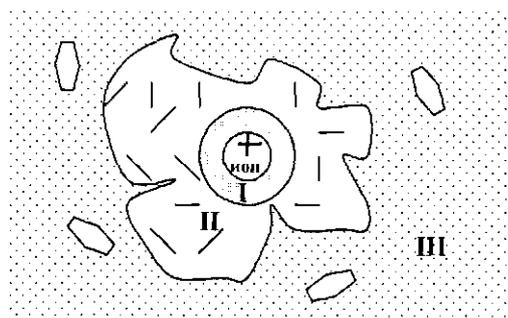
дальнейшего роста микроорганизмов и продолжение охлаждения минимум до 10°C (для ограничения ферментативной деятельности микроорганизмов).

Фасовка плотного и питьевого йогурта различна. В первом случае ее осуществляют после заквашивания и короткого предварительного созревания (не дольше 30 мин), во втором - сквашивание и предварительное охлаждение заканчиваются уже до фасовки.

1.4 Теория гидратации

Процесс гидратации широко используется в технологии пищевых производств. Под гидратацией следует понимать физико-химическое взаимодействие молекул, атомов, ионов, электронов с водой, не сопровождающееся разрушением молекул воды.

Модель поведения ионных водных растворов, предложенная Клотц, дает возможность описать процессы гидратации ионов в воде (рисунок 1.8). Вокруг центрального иона (в данном случае положительного) расположено 4-6 наиболее прочно и жестко удерживаемых молекул воды, которые иногда называются «жестко связанными» (I). Предполагают, что именно наличие этих прочно закрепленных молекул воды и определяет высокое значение энергии гидратации (энергетический уровень). В наружном слое (III) находится обычная вода, содержащая гексагональные неустойчивые кристаллы, имеющие тенденцию к захвату новых молекул воды для образования гексагональной микрокристаллической структуры.



I - первичный слой, жестко связанный; II – слой с беспорядочно расположенными молекулами; III – обычная жидкость

Рисунок 1.8 - Модель структуры воды, в областях прилегающих к неорганическому иону.

Между этими двумя областями имеется промежуточная область (II), молекулы которой расположены неупорядоченно в силу того, что они находятся под влиянием двух конкурирующих воздействий: центрально-симметричное поле иона стремится выстроить их в определенном порядке вокруг катиона, расположенного в центре, а наружный слой жидкой воды стремится включить эти молекулы в свою гексагональную структуру.

В молочных продуктах вода выступает как диспергирующая среда и растворитель, стабилизирует структуру белков и других полимеров, обуславливая консистенцию и вкус продукта.

Свободная влага (вода) является растворителем органических и неорганических соединений (в частности, лактозы, солей, кислот, водорастворимых витаминов, ароматических веществ). Свободная вода доступна для развития микроорганизмов, протекания химических и биохимических процессов, именно она является причиной порчи молочных продуктов. Ее можно удалить с помощью высушивания, ультрафильтрации, сгущения, а также превратить в лед под действием отрицательных температур.

Связанная влага по своим свойствам значительно отличается от свободной воды и недоступна микроорганизмам, в ней не протекают химические процессы. По форме связи с компонентами связанная вода согласно классификации П.А. Ребиндера делится на три группы: вода химической, физико-химической и физико-механической связи, отличающиеся природой и величиной энергии (прочности).

Наиболее прочной является химическая связь воды в соединениях и кристаллогидратах. В молочных продуктах химически связанная вода представлена водой кристаллогидратов молочного сахара ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$). Физико-химическая связь воды характеризуется средней прочностью, она образуется в результате притяжения диполей воды полярными группами молекул белков, фосфолипидов, олигосахаридов и других компонентов. Гидратация частиц обусловлена наличием полярных групп: $-COOH$, $-OH$, $-NH_2$, $-SH$ и др. При адсорбировании воды диполи располагаются несколькими слоями вокруг гидрофильных центров, образуя так называемую гидратную (водную) оболочку, от толщины и прочности которой зависит стабильности мицелл. Первый (мономолекулярный) слой оболочки представляет собой строго ориентированные неподвижные молекулы воды, связан с белком наиболее прочно; последующий диффузионный мультислой связан с меньшей энергией связи.

Воду первого слоя называют связанной водой или влагой мономолекулярной адсорбции; воду остальных слоев – влагой полимолекулярной адсорбции, свойства которой еще близки к свойствам связанной влаги.

Наиболее распространенная интерпретация механизма гидратации белков заключается в образовании локальной области на определенных участках белковых молекул, вызванной их гидрофобной и гидрофильной природой.

В данном случае так же, как и при рассмотрении гидратации ионных водных растворов, имеет место наличие активного центра, обладающего максимальной энергией. По мере удаления от этого центра энергия уменьшается. При смешивании нескольких гидратированных субстанций гидратационные слои стараются выбрать наиболее выгодное энергетическое состояние, которое выражается присоединением, в первую очередь, субстанций с одинаковым энергетическим уровнем. В случае нарушения

целостности энергетического уровня наступает квазистационарное состояние, приводящее систему к деструкции.

2 Методы и результаты экспериментальных исследований

2.1 Регулирование активности воды йогуртного продукта

Регулирование активности воды осуществляли с помощью тензиметрического метода, сущность которого заключается в следующем: стаканчик (бюкс) с образцом йогуртного продукта помещают в эксикатор, где устанавливается определенная влажность воздуха ϕ , создаваемая парами раствора серной кислоты соответствующей концентрации. Бюкс периодически взвешивают, пока его масса не станет постоянной; это свидетельствует о достижении состояния равновесия, которому соответствует определенное значение активности воды a_w .

Растворы серной кислоты H_2SO_4 заданной концентрации готовили, исходя из следующего соотношения:

$$\omega = (m_b / m_p) \cdot 100, \quad (2.1)$$

где ω – концентрация раствора, % вес.;

m_b – масса вещества, г;

m_p – масса раствора, г.

Результаты расчетов, с учетом концентрации раствора серной кислоты равной 98,97% (вес.), приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Приготовление растворов серной кислоты.

Масса готового раствора H_2SO_4 , г	Концентрация раствора H_2SO_4 , % вес.	Масса 98,97%-ной (вес.) H_2SO_4 , г	Масса дист. H_2O , г
300	75	227,34	72,66
300	50	151,56	148,44
375	25	94,73	280,27
450	5	22,73	427,27

Стерилизацию бюксов проводили следующим образом: выдерживали их в хромовой смеси (раствор бихромата калия в концентрированной серной кислоте) в течение 20 мин, затем промывали водопроводной и дистиллированной водой и высушивали в сушильном шкафу 30 мин при температуре 150°C.

Исследуемые образцы продуктов:

№1 «Услада золотая» – продукт молочно-растительный йогуртный пастеризованный ароматизированный, с соком клубники, жирность 5,1 %, Ehrmann, температура хранения от +2 до +20°C;

№2 «Нежный» – продукт йогуртный пастеризованный, с соком клубники, сливочный, жирность 5 %, Campina, температура хранения от +4 до +25°C;

№3 «Чудо-йогурт» – йогуртный продукт молочно-сливочный термизированный с персиком и маракуйей, жирность 5,1 %, температура хранения от 0 до +25°C.

В подготовленные и пронумерованные стеклографом бюксы брали навески продуктов, которые затем помещали в эксикаторы с заданной концентрацией раствора серной кислоты. Полученные данные сведены в таблице 2.2.

Для расчета начальной относительной влажности воздуха в эксикаторе в формулу (1.4) подставили значения давления насыщенного водяного пара $P_v = 31,7 \cdot 10^2$ Па и паров воды над растворами серной кислоты P_n при температуре 25°C (298K) [14]. Полученные данные сведены в таблицу 2.3.

Таблица 2.3 – Расчет относительной влажности воздуха в зависимости от концентрации раствора серной кислоты.

Концентрация раствора H_2SO_4 , % вес.	Давление паров воды $P_{n \text{ нач.}}$, 10^2 Па	Относительная влажность воздуха, %
5	31,0	97,79
25	26,1	82,33
50	11,3	35,65
75	0,5	1,58

При взвешивании бюксов с образцами во избежание сорбции влаги продуктом из воздуха их закрывали притертыми крышками. Результаты эксперимента сведены в таблицах 2.4-2.15.

Активность воды йогуртного продукта при соответствующем значении относительной влажности [14], с учетом количества влаги, поглощенной сорбентом, определяли согласно уравнения (1.5); результаты вычислений представлены в таблице 2.16.

Таблица 2.16. – Расчет активности воды йогуртного продукта.

Начальная концентрация раствора H_2SO_4 , % вес.	Конечная концентрация раствора H_2SO_4 , % вес.	Давление паров воды $P_{n \text{ кон.}}$, 10^2 Па	Относительная влажность воздуха, %	Активность воды продукта, доли ед.
5	4,967	31,005	97,81	0,98
25	24,05	26,44	83,34	0,83
50	47,01	13,33	42,05	0,42
75	70,27	11,96	37,73	0,038

Таблица 2.2 – Расчет массы навески йогуртного продукта при соответствующей концентрации раствора серной кислоты.

Образец йогуртного продукта	Концентрация раствора H_2SO_4 , % вес.	Масса пустого бюкса, г	Масса бюкса с навеской, г	Масса навески продукта, г
№1 «Услада золотая»	75	42,1392	45,1049	2,9657
		43,1456	46,1099	2,9643
		46,0209	48,9860	2,9651
	50	25,7516	29,1222	3,3706
		26,1354	29,5066	3,3712
		24,8966	28,2664	3,3698
	25	21,1282	24,0559	2,9277
		23,5698	26,4967	2,9269
		25,7456	28,6739	2,9283
	5	20,9288	23,8705	2,9417
		21,3587	24,2988	2,9401
		23,5612	26,5024	2,9412
№2 «Нежный»	75	47,0357	50,2030	3,1673
		47,9584	51,1254	3,1670
		49,9583	53,1258	3,1665
	50	22,4042	25,7337	3,3295
		24,0874	27,4162	3,3288
		23,1288	26,4589	3,3301
	25	24,0102	27,3156	3,3054
		25,2369	28,5420	3,3051
		28,4571	31,7633	3,3062
	5	22,1301	25,1931	3,0630
		21,7863	24,8488	3,0625
		20,1945	23,2582	3,0637
№3 «Чудо-йогурт»	75	50,1312	53,1237	2,9925
		51,8590	54,8521	2,9931
		50,7974	53,7893	2,9921
	50	25,1027	28,7764	3,6737
		27,1950	30,8681	3,6731
		24,5879	28,2624	3,6745
	25	21,3738	24,3404	2,9666
		23,5554	26,5212	2,9658
		21,0258	23,9932	2,9674
	5	24,7890	27,8521	3,0631
		25,0125	28,0752	3,0627
		23,5688	26,6303	3,0615

Таблица 2.4 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №1 «Улада золотая» при начальной концентрации раствора серной кислоты 75 % (вс.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	45,1049	46,1099	48,9860
245	44,9641	45,9701	48,8455
629	44,7699	45,7767	48,6518
2064	44,2599	45,2668	48,1423
2704	44,0381	45,0469	47,9211
5674	43,1354	44,1457	47,0190
5944	43,0323	44,0441	46,9171
6304	42,9884	44,0008	46,8741
7794	42,9519	43,9652	46,8383
7894	42,9506	43,9638	46,8371
8134	42,9491	43,9625	46,8355
8454	42,9472	43,9608	46,8337
11409	42,9369	43,9510	46,8235
11659	42,9363	43,9502	46,8228
11809	42,9357	43,9500	46,8223
11909	42,9357	43,9500	46,8223

Таблица 2.5 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №2 «Нежный» при начальной концентрации раствора серной кислоты 75 % (вс.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	50,2030	51,1254	53,1258
245	50,0473	50,9698	52,9706
629	49,8307	50,7533	52,7549
2064	49,2517	50,1745	52,1765
2704	49,0354	49,9589	51,9616
5674	48,0776	49,0014	51,0052
5944	47,9525	48,8764	50,8822
6304	47,8987	48,8228	50,8290
7794	47,8614	48,7858	50,7927
7894	47,8604	48,7848	50,7918
8134	47,8589	48,7834	50,7904
8454	47,8574	48,7819	50,7890
11409	47,8489	48,7735	50,7807
11659	47,8478	48,7727	50,7798
11809	47,8473	48,7723	50,7794
11909	47,8473	48,7723	50,7794

Таблица 2.6 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №3 «Чудо-йогурт» при начальной концентрации раствора серной кислоты 75 % (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	53,1237	54,8521	53,7895
245	52,9671	54,6954	53,6332
629	52,7390	54,4667	53,4057
2064	52,2053	53,9128	52,8723
2704	51,9944	53,7012	52,6623
5674	51,0986	52,8078	51,7493
5944	50,9935	52,7022	51,6449
6304	50,9547	52,6632	51,6064
7794	50,9264	52,6345	51,5783
7894	50,9257	52,6338	51,5776
8134	50,9244	52,6324	51,5764
8454	50,9232	52,6312	51,5753
11409	50,9157	52,6236	51,5680
11659	50,9147	52,6225	51,5672
11809	50,9145	52,6222	51,5670
11909	50,9145	52,6222	51,5670

Таблица 2.7 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №1 «Услада золотая» при начальной концентрации раствора серной кислоты 5 % (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	23,8705	24,2988	26,5024
2120	23,8105	24,2397	26,4428
2495	23,7955	24,2255	26,4285
5465	23,7663	24,1966	26,3990
5675	23,7334	24,1639	26,3661
6110	23,7137	24,1444	26,3466
7520	23,7015	24,1325	26,3349
7860	23,6839	24,1152	26,3170
8180	23,6765	24,1079	26,3100
11265	23,6473	24,0795	26,2811
11640	23,6236	24,0568	26,2575
14755	23,5620	23,9959	26,1963
16195	23,5521	23,9858	26,1866
16465	23,5508	23,9845	26,1856
16585	23,5506	23,9842	26,1853
16675	23,5506	23,9842	26,1853

Таблица 2.8 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №2 «Нежный» при начальной концентрации раствора серной кислоты 5 % (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	25,1931	24,8488	23,2582
2120	25,1322	24,7891	23,1959
2495	25,1166	24,7739	23,1800
5465	25,0737	24,7312	23,1368
5675	25,0402	24,6983	23,1036
6110	25,0195	24,6779	23,0829
7520	25,0013	24,6600	23,0646
7860	24,9838	24,6428	23,0467
8180	24,9754	24,6347	23,0380
11265	24,9333	24,5932	22,9953
11640	24,9096	24,5697	22,9715
14755	24,8515	24,5118	22,9130
16195	24,8428	24,5029	22,9040
16465	24,8417	24,5020	22,9032
16585	24,8414	24,5016	22,9028
16675	24,8414	24,5016	22,9028

Таблица 2.9 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №3 «Чудо-йогурт» при начальной концентрации раствора серной кислоты 5 % (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	27,8521	28,0752	26,6303
2120	27,7941	28,0176	26,5736
2495	27,7790	28,0030	26,5598
5465	27,7410	27,9657	26,5235
5675	27,7082	27,9335	26,4917
6110	27,6863	27,9125	26,4713
7520	27,6652	27,8917	26,4504
7860	27,6485	27,8751	26,4343
8180	27,6408	27,8678	26,4271
11265	27,6058	27,8328	26,3923
11640	27,5832	27,8108	26,3706
14755	27,5251	27,7532	26,3125
16195	27,5162	27,7447	26,3043
16465	27,5152	27,7437	26,3036
16585	27,5149	27,7433	26,3032
16675	27,5149	27,7433	26,3032

Таблица 2.10- Результаты взвешивания йогуртного продукта №1 «Улада золотая» при начальной концентрации раствора серной кислоты 25% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	24,0559	26,4967	28,6739
4300	23,3240	25,7666	27,9414
5380	23,2117	25,6546	27,8289
6085	23,1576	25,6011	27,7742
6500	23,1408	25,5849	27,7570
7175	23,0759	25,5203	27,6916
8780	22,8992	25,3439	27,5145
9415	22,8365	25,2813	27,4514
11095	22,4953	24,9402	27,1098
11455	22,4800	24,9251	27,0942
11785	22,4672	24,9125	27,0811
14735	22,4474	24,8930	27,0605
15755	22,4404	24,8863	27,0529
15910	22,4398	24,8856	27,0524
16045	22,4396	24,8852	27,0521
16205	22,4396	24,8852	27,0521

Таблица 2.11 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №2 «Нежный» при начальной концентрации раствора серной кислоты 25% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	27,3156	28,5420	31,7633
4300	26,4757	27,7012	30,9374
5380	26,3570	27,5835	30,8071
6085	26,2866	27,5121	30,7361
6500	26,2582	27,4844	30,7103
7175	26,1931	27,4186	30,6508
8780	26,0172	27,2414	30,4759
9415	25,9402	27,1644	30,4094
11095	25,5809	26,8045	30,0434
11455	25,5664	26,7936	30,0295
11785	25,5545	26,7886	30,0256
14735	25,5376	26,7834	30,0173
15755	25,5320	26,7774	30,0150
15910	25,5313	26,7764	30,0113
16045	25,5310	26,7758	30,0104
16205	25,5310	26,7758	30,0104

Таблица 2.12 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №3 «Чудо-йогурт» при начальной концентрации раствора серной кислоты 25% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	24,3404	26,5212	23,9932
4300	23,5781	25,7594	23,2319
5380	23,5627	25,7443	23,2167
6085	23,4968	25,6792	23,1521
6500	23,4752	25,6575	23,1304
7175	23,4095	25,5925	23,0662
8780	23,2331	25,4157	22,8889
9415	23,1615	25,3447	22,8186
11095	22,8111	24,9946	22,4687
11455	22,7954	24,9792	22,4533
11785	22,7829	24,9672	22,4418
14735	22,7655	24,9501	22,4248
15755	22,7588	24,9434	22,4180
15910	22,7583	24,9427	22,4174
16045	22,7579	24,9424	22,4170
16205	22,7579	24,9424	22,4170

Таблица 2.13- Результаты взвешивания йогуртного продукта №1 «Услада золотая» при начальной концентрации раствора серной кислоты 50% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	29,1222	29,5066	28,2664
4185	28,4216	28,8057	27,5662
4865	28,3532	28,7369	27,4984
5315	28,2910	28,6742	27,4365
5915	28,1402	28,6655	27,2861
6405	28,1345	28,5232	27,2806
6710	27,7950	28,5173	26,9413
8160	27,7244	28,1770	26,8712
8835	27,7102	28,1062	26,8577
9020	27,2001	28,0918	26,3479
10525	27,0680	27,5814	26,2159
12725	27,0412	27,4489	26,1894
13230	27,0406	27,4218	26,1889
13410	27,0404	27,4211	26,1885
13555	27,0402	27,4206	26,1882
13705	27,0402	27,4206	26,1882

Таблица 2.14 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №2 «Нежный» при начальной концентрации раствора серной кислоты 50% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	25,7337	27,4162	26,4589
4185	25,0003	26,6831	25,6850
4865	24,9520	26,6353	25,6360
5315	24,8834	26,5668	25,5670
5915	24,7447	26,4287	25,4279
6405	24,7380	26,4222	25,4205
6710	24,3755	26,0600	25,0569
8160	24,2977	25,9824	24,9791
8835	24,2847	25,9696	24,9652
9020	23,8713	25,5564	24,5514
10525	23,7238	25,4091	24,4037
12725	23,6941	25,3795	24,3736
13230	23,6934	25,3787	24,3730
13410	23,6929	25,3781	24,3726
13555	23,6925	25,3778	24,3724
13705	23,6925	25,3778	24,3724

Таблица 2.15 - Результаты взвешивания йогуртного продукта №3 «Чудо-йогурт» при начальной концентрации раствора серной кислоты 50% (вес.).

Длительность анализа, мин	Масса бюкса с навеской, г		
	1	2	3
0	28,7764	30,8681	28,2624
4185	27,7862	29,8780	27,2718
4865	27,7343	29,8270	27,2188
5315	27,6756	29,7685	27,1597
5915	27,4671	29,5605	26,9502
6405	27,4610	29,5546	26,9437
6710	27,0840	29,1777	26,5659
8160	26,9909	29,0849	26,4722
8835	26,9793	29,0738	26,4594
9020	26,7064	28,8012	26,1861
10525	26,5774	28,6724	26,0565
12725	26,5480	28,6432	26,0262
13230	26,5474	28,6427	26,0257
13410	26,5470	28,6423	26,0254
13555	26,5468	28,6420	26,0251
13705	26,5468	28,6420	26,0251

Таким образом, с помощью описанного метода была осуществлена система изменения активности воды (влагосодержания) йогуртного продукта путем десорбции определенного количества влаги из продукта раствором серной кислоты различной концентрации, создаваемой соответствующую относительную влажность окружающего исследуемый образец воздуха.

2.2 Исследование показателей липидного окисления

2.2.1 Определение титруемой кислотности

Метод основан на нейтрализации кислот в продукте, раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора фенолфталеина [13]. Титруемая кислотность выражается в градусах Тернера (°Т).

Один градус Тернера (°Т) соответствует объему (см^3) водного раствора гидроксида натрия NaOH концентрацией 0,1 моль/ дм^3 , необходимый для нейтрализации 100 г (см^3) исследуемого продукта.

Для приготовления раствора гидроксида натрия NaOH концентрацией 0,1 моль/ дм^3 в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 помещали объем концентрированного раствора, содержащего 4,0 г гидроксида натрия, доводили объем раствора до метки дистиллированной водой, не содержащей углекислоты, и перемешивали (дистиллированная вода, не содержащая углекислоту, готовится по ГОСТ 4517-87).

Кислотность окрашенного йогуртного продукта определяли следующим образом: брали навеску продукта в колбу вместимостью 250 см^3 , добавляли 50 см^3 дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивали и титровали раствором гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Для определения конца титрования колбу с титруемой смесью ставили на лист белой бумаги и рядом помещали колбу с контрольной пробой для сравнения интенсивности окраски [13].

При вычислении кислотности учитывали коэффициент поправки раствора гидроксида натрия концентрации 0,1 моль/ дм^3 , который необходим для определения точной концентрации раствора:

$$C = C_1 \cdot K, \quad (2.2)$$

где C - точная концентрация раствора, моль/ дм^3 ;

C_1 - заданная концентрация вещества в растворе, моль/ дм^3 ;

K - коэффициент поправки.

Результаты эксперимента представлены в таблице 2.17, 2.18.

Таблица 2.17 – Расчет титруемой кислотности йогуртного продукта при определенном значении активности воды.

Йогуртный продукт	Активность воды продукта, доли ед.	Масса навески продукта, г	Объем 0,1 моль/дм ³ NaOH, израсходованный на титрование, см ³	K	Кислотность, °T
1	2	3	4	5	6
№1 «Услада золотая»	0,98	0,2582	0,20	1,03	79,23
		0,3641	0,28		78,21
		0,2812	0,21		77,41
		0,3587	0,27		77,12
		0,3361	0,26		78,46
		0,4132	0,32		79,13
	0,83	0,9401	1,41	0,99	147,98
		0,8841	1,31		147,17
		0,7566	1,13		147,95
		0,7315	1,09		148,08
		0,9123	1,37		148,39
		0,8821	1,32		148,61
	0,42	0,9874	2,12	0,99	212,72
		1,0254	2,21		213,17
		1,0002	2,15		212,94
		0,9743	2,10		212,88
		0,8752	1,88		212,43
		0,8632	1,85		212,66
	0,038	0,2354	0,50	0,99	212,26
		0,1987	0,43		212,48
		0,1726	0,37		212,60
		0,1954	0,42		213,10
		0,1856	0,40		212,85
		0,1799	0,39		212,74
№2 «Нежный»	0,98	0,4023	0,32	1,03	81,66
		0,3512	0,28		82,37
		0,2697	0,22		83,36
		0,2897	0,24		83,72
		0,3698	0,30		83,24
		0,2931	0,23		82,09
	0,83	1,0125	1,25	0,99	121,95
		1,0315	1,27		121,63
		0,9948	1,22		121,75
		0,9972	1,23		122,15
		1,0047	1,24		122,28

Продолжение таблицы 2.17

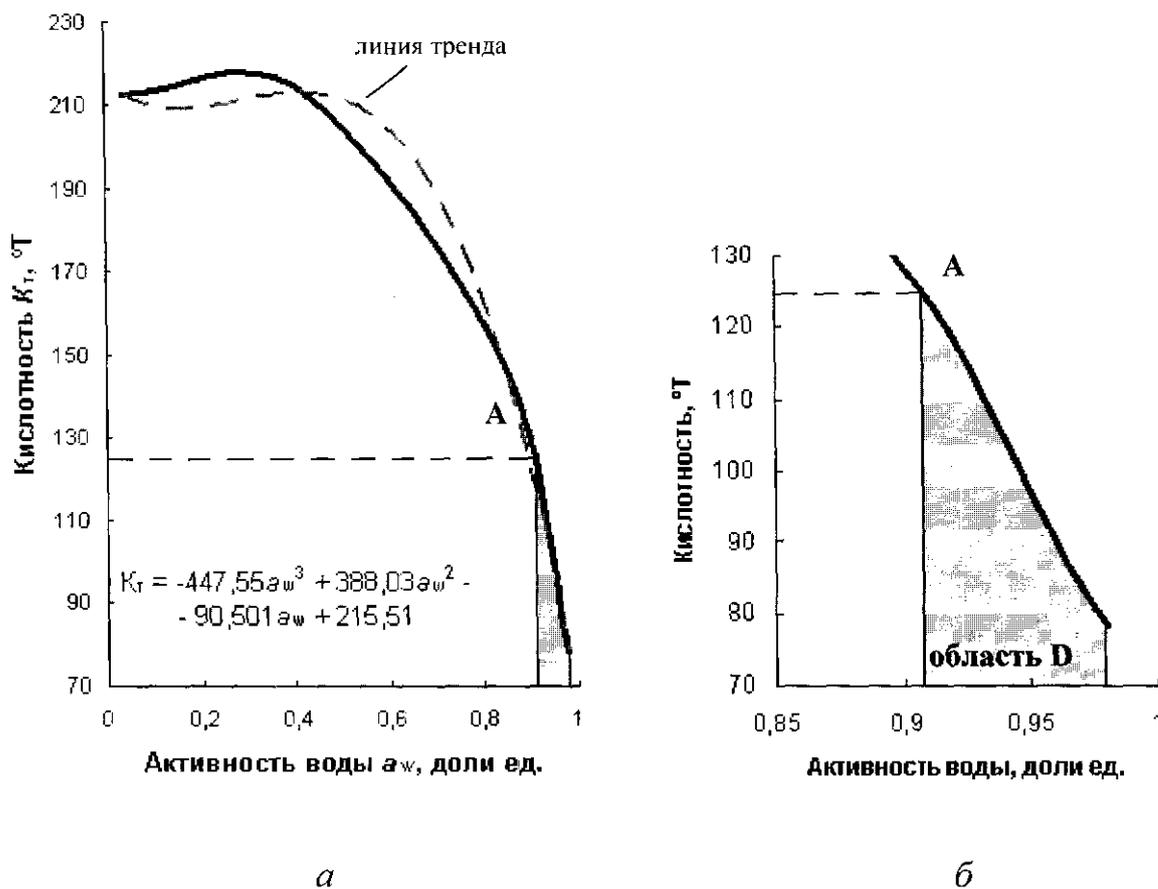
1	2	3	4	5	6
	0,42	1,0023	1,24	0,99	122,54
		0,8145	1,30	0,99	157,43
		0,8223	1,31		158,24
		0,7948	1,28		158,87
		0,7745	1,25		159,43
		0,8852	1,42		158,85
		0,8852	1,41		157,76
	0,038	0,3621	0,96	0,99	261,33
		0,2987	0,79		260,95
		0,3587	0,95		261,29
		0,3146	0,83		261,70
		0,2988	0,79		262,25
		0,3192	0,85		262,08
	№3 «Чудо- йогурт»	0,98	0,2587	0,26	1,03
0,2639			0,26	101,44	
0,2479			0,24	101,38	
0,3105			0,31	101,18	
0,2871			0,28	102,12	
0,3069			0,30	102,21	
0,83		0,9871	1,54	0,99	154,61
		0,9721	1,51		154,13
		0,8475	1,33		155,20
		0,8731	1,37		154,80
		0,9236	1,45		155,16
		0,9147	1,43		154,39
0,42		1,0125	4,84	0,99	473,15
		0,9978	4,78		474,39
		1,0236	4,90		473,48
		0,9873	4,72		473,54
		0,9905	4,72		472,19
		1,0009	4,78		472,99
0,038		0,4123	1,33	0,99	318,59
		0,4015	1,29		319,16
		0,3987	1,29		319,87
		0,4098	1,32		320,05
		0,4105	1,32		319,23
		0,3801	1,22		319,02

Таблица 2.18 – Расчет среднеарифметического значения кислотности йогуртного продукта.

Активность воды продукта, доли ед.	Йогуртный продукт	Кислотность, °Т*					
		№1 «Услада золотая»		№2 «Нежный»		№3 «Чудо-йогурт»	
		проба №1	проба №2	проба №1	проба №2	проба №1	проба №2
0,98	1	79,23	77,12	81,66	83,72	102,05	101,18
	2	78,21	78,46	82,37	83,24	101,44	102,12
	3	77,41	79,13	83,36	82,09	101,38	102,21
	среднее значение	78,26		82,74		101,73	
		87,58					
0,83	1	147,98	148,08	121,95	122,15	154,61	154,80
	2	147,17	148,39	121,63	122,28	154,13	155,16
	3	147,95	148,61	121,75	122,54	155,20	154,39
	среднее значение	148,03		122,05		154,72	
		141,60					
0,42	1	212,72	212,88	157,43	159,43	473,15	473,54
	2	213,17	212,43	158,24	158,85	474,39	472,19
	3	212,94	212,66	158,87	157,76	473,48	472,99
	среднее значение	212,80		158,43		473,29	
		281,51					
0,038	1	212,26	213,10	261,33	261,70	318,59	320,05
	2	212,48	212,85	260,95	262,25	319,16	319,23
	3	212,60	212,74	261,29	262,08	319,87	319,02
	среднее значение	212,67		261,60		319,32	
		264,53					

* Сходимость: расхождение между двумя параллельными определениями (при принятой доверительной вероятности равной 0,95) не должно превышать 2,6 °Т [13].

На основании данных таблицы 2.18 построили график зависимости кислотности йогуртных продуктов от значения активности воды, а также представили его математическое выражение, характеризующееся полиномиальной кривой – линией тренда (рисунок 2.1 – 2.3, а).



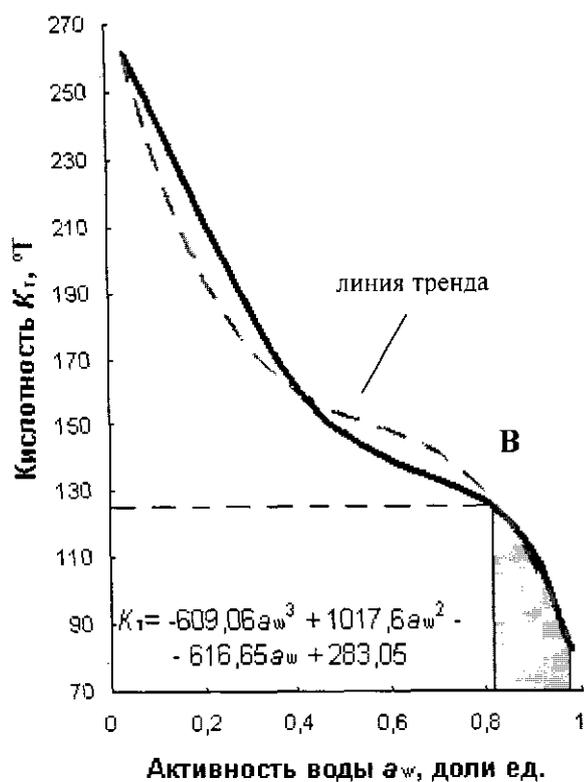
а – динамика влияния активность воды на кислотность; *б* – область допустимых отклонений активности воды

Рисунок 2.1 – График зависимости кислотности и активности воды для опытного образца №1 «Услада золотая».

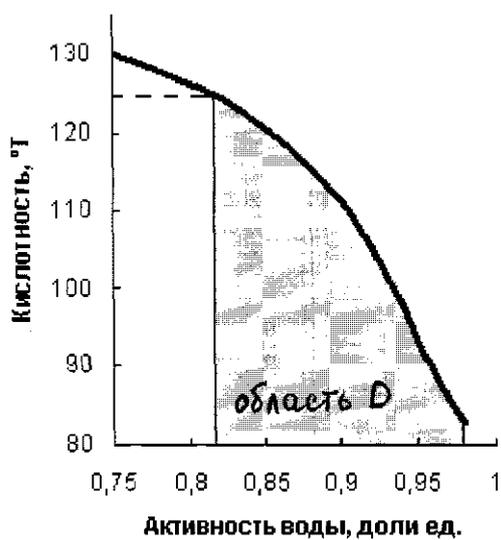
Максимальное значение показатель кислотности продукта достигает при активности воды равной для образца №1 «Услада золотая» 0,28, для образца №3 «Чудо йогурт» - 0,381.

Вследствие нормирования показателя кислотности йогуртных продуктов – не более 125°Т [12] – наибольший интерес представляет область допустимых отклонений активности воды *область D* (рисунок 2.1 – 2.3, б).

Интерпретация *области D*: для образца йогуртного продукта №1 «Услада золотая» минимально допустимое значение активности воды равно $a_w = 0,908$; для образца №2 «Нежный» - $a_w = 0,807$; для образца №3 «Чудо-йогурт» - $a_w = 0,909$.



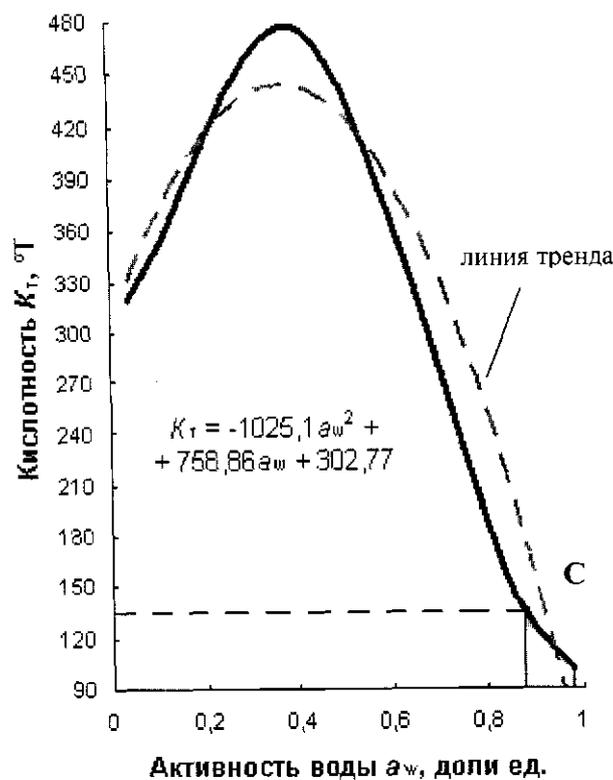
а



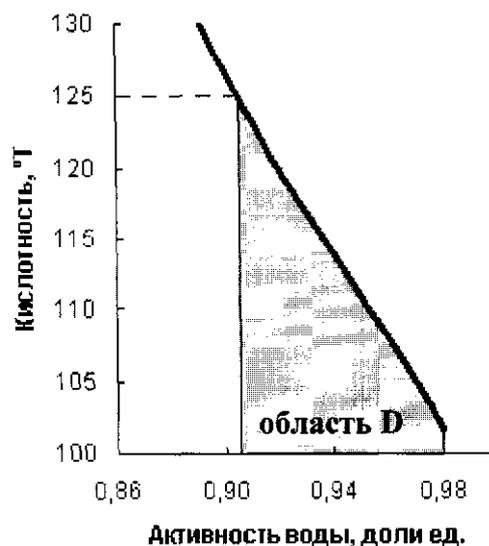
б

а – динамика влияния активность воды на кислотность; б – область допустимых отклонений активности воды

Рисунок 2.2 – График зависимости кислотности и активности воды для опытного образца №2 «Нежный».



а



б

а – динамика влияния активность воды на кислотность; б – область допустимых отклонений активности воды

Рисунок 2.3 – График зависимости кислотности и активности воды для опытного образца №3 «Чудо-йогурт».

Таким образом, в результате проведенного экспериментального исследования выявлена динамика влияния изменения активности воды йогуртного продукта 5%-ной жирности на его кислотность: интенсивность

образования кислот при $a_w > 0,4$ имеет обратно пропорциональный характер, при $a_w = 0,25 \div 0,4$ достигает максимума, а дальнейшее уменьшение активности воды продукта ведет к снижению их содержания.

2.2.2 Определение перекисного числа.

Перекисное число определяется путем титрования выделившегося йода J_2 , образовавшегося в результате реакции гидроперекисей с йодистым калием КJ. Для этого навеску продукта сначала растворяют в смеси уксусной кислоты CH_3COOH с изооктаном в пропорции 60:40. Йодистый калий КJ вводят в виде насыщенного раствора. После выдержки образцов в темноте без доступа кислорода добавляют дистиллированную воду для прекращения реакции. На протяжении всего анализа проводят перемешивание. Выделившийся йод J_2 титруют раствором тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$ в присутствии индикатора (крахмала).

Проведение анализа: в коническую колбу вместимостью 250см^3 брали навеску йогуртного продукта, добавляли 30 см^3 5%-ного раствора уксусной кислоты и 20 см^3 изооктана (соотношение 60:40), затем вносили в колбу 10см^3 насыщенного раствора йодистого калия. Содержимое колбы тщательно перемешивали в течение 5 мин и помещали в темноту на 5 мин. По истечении заданного времени приливали 50 см^3 дистиллированной воды, добавляли с помощью пипетки 1 см^3 крахмала (0,5-ный водный раствор) и титровали $0,002\text{M}$ раствором тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$ до обесцвечивания [15].

Количество выделившегося йода X вычисляли по уравнению, г J_2 на 100 г продукта:

$$X = (V \cdot F \cdot 0,01269/m) \cdot 100, \quad (2.3)$$

где V – объем раствора тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$ $0, 1$ моль/ дм^3 , израсходованный на титрование продукта, см^3 ;

F – фактор раствора тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$ $0, 1$ моль/ дм^3 ;

$0,01269$ – количество йода J_2 , эквивалентное 1 см^3 раствора тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$ точно $0, 1$ моль/ дм^3 ;

m – масса продукта, г.

Расчет перекисного числа Π производили по следующей формуле, %:

$$\Pi = X/50, \quad (2.4)$$

где 50 – коэффициент пересчета концентрации раствора тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$, соответствующей $0,002\text{M}$.

Результаты опытов представлены в таблице 2.19.

Данные по определению среднеарифметической величины перекисного числа сведены в таблицу 2.20.

Таблица 2.19 - Расчет перекисного числа йогуртного продукта при определенном значении активности воды.

Активность воды продукта, доли ед.	Йогуртный продукт	Масса навески продукта, г	Объем V $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 моль/дм ³ , см ³ *	Перекисное число, %
1	2	3	4	6
0,98	№1 «Услада золотая»	0,4625	0,83	0,0455
		0,4513	0,82	0,0461
		0,3321	0,60	0,0458
		0,3691	0,66	0,0454
		0,4012	0,73	0,0463
		0,3526	0,64	0,0460
	№2 «Нежный»	0,3897	0,94	0,0612
		0,3955	0,97	0,0622
		0,3145	0,76	0,0615
		0,2963	0,73	0,0623
		0,3129	0,76	0,0614
		0,2796	0,68	0,0619
	№3 «Чудо-йогурт»	0,3371	0,50	0,0376
		0,3841	0,64	0,0423
		0,4058	0,65	0,0409
		0,3502	0,53	0,0384
		0,0328	0,05	0,0391
		0,3083	0,50	0,0415
0,83	№1 «Услада золотая»	0,3043	0,80	0,0667
		0,6589	1,78	0,0686
		0,4632	1,23	0,0674
		0,5102	1,39	0,0691
		0,4789	1,29	0,0683
		0,3809	1,00	0,0669
	№2 «Нежный»	0,3247	1,02	0,0797
		0,4752	1,56	0,0833
		0,4328	1,41	0,0824
		0,4023	1,29	0,0811
		0,3722	1,20	0,0819
		0,3544	1,13	0,0808
	№3 «Чудо-йогурт»	0,2876	0,66	0,0578
		0,3984	0,81	0,0516
		0,2689	0,59	0,0558
		0,2745	0,59	0,0543
		0,2691	0,55	0,0522
		0,2536	0,56	0,0564

Продолжение таблицы 2.19

1	2	3	4	6
0,42	№1 «Услада золотая»	0,1322	0,85	0,1632
		0,2147	1,43	0,1690
		0,1987	1,29	0,1651
		0,1621	1,05	0,1643
		0,1356	0,90	0,1678
		0,1723	1,14	0,1682
	№2 «Нежный»	0,3008	0,66	0,0557
		0,3621	0,78	0,0547
		0,2569	0,56	0,0551
		0,2731	0,59	0,0545
		0,2019	0,43	0,0543
		0,2801	0,62	0,0559
	№3 «Чудо- йогурт»	0,1316	0,85	0,1639
		0,2587	1,63	0,1599
		0,1826	1,17	0,1622
		0,1479	0,94	0,1613
		0,1563	1,01	0,1633
		0,2189	1,39	0,1608
0,038	№1 «Услада золотая»	0,0925	0,52	0,1427
		0,1583	0,87	0,1395
		0,1123	0,62	0,1403
		0,1522	0,85	0,1421
		0,1327	0,74	0,1419
		0,1258	0,70	0,1421
	№2 «Нежный»	0,0429	0,33	0,1952
		0,1247	0,92	0,1872
		0,0845	0,63	0,1886
		0,0921	0,71	0,1944
		0,0698	0,53	0,1932
		0,0587	0,44	0,1916
	№3 «Чудо- йогурт»	0,0784	0,61	0,1975
		0,0891	0,70	0,1994
		0,7001	5,46	0,1979
		0,0623	0,49	0,1982
		0,0588	0,46	0,1990
		0,6003	0,47	0,1985

* Фактор F раствора тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,002M равен 1,0.

Таблица 2.20 – Значение среднеарифметической величины перекисного числа.

Йогуртный продукт	Перекисное число, %			
	$a_w = 0,98$	$a_w = 0,83$	$a_w = 0,42$	$a_w = 0,038$
№1 «Услада золотая»	0,0459	0,0678	0,1663	0,1414
№2 «Нежный»	0,0618	0,0815	0,0550	0,1917
№3 «Чудо-йогурт»	0,0400	0,0547	0,1619	0,1984

На основании данных таблицы 2.20 построили график зависимости перекисного числа от активности воды йогуртного продукта (рисунок 2.4 - 2.6).

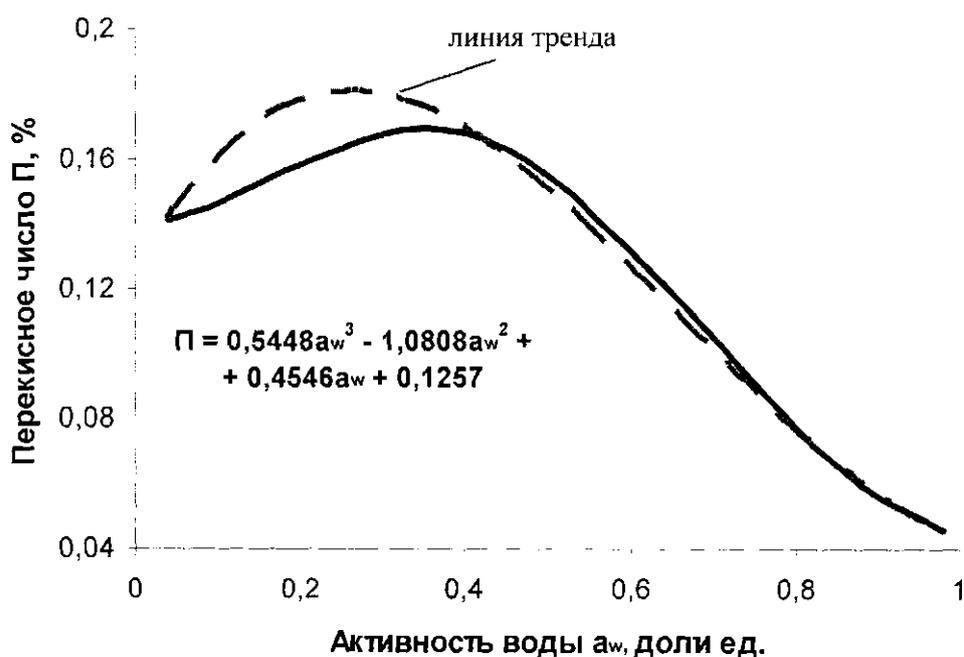


Рисунок 2.4 – График зависимости перекисного числа от активности для воды опытного образца №1 «Услада золотая».

На рисунках 2.4 - 2.6 показана линия тренда, а также ее математическое выражение, которое приближенно описывает зависимость перекисного числа йогуртного продукта от активности воды.

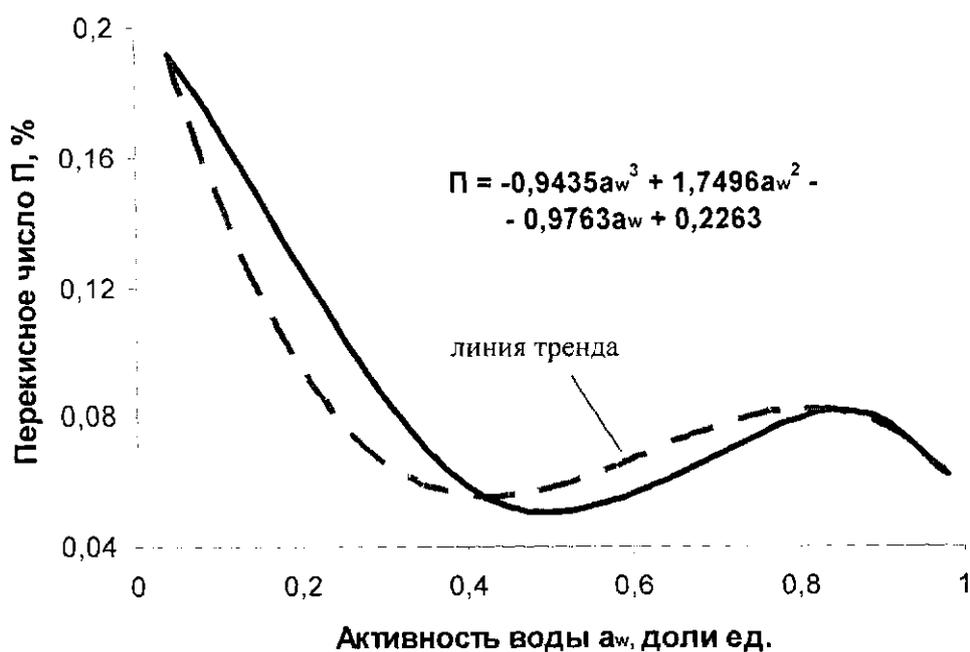


Рисунок 2.5 – График зависимости перекисного числа от активности для воды опытного образца №2 «Нежный».

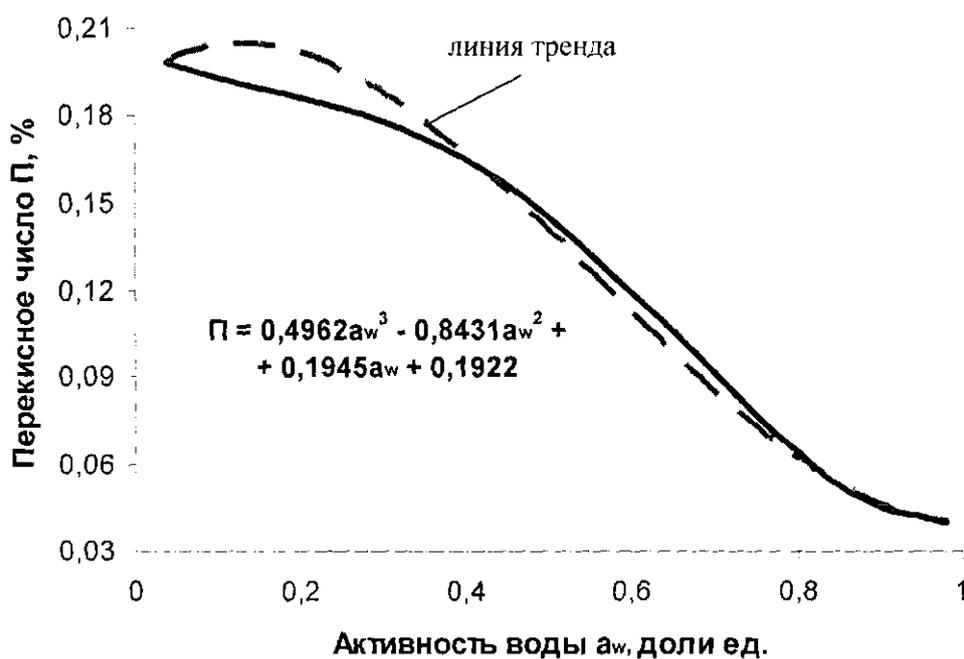


Рисунок 2.6 – График зависимости перекисного числа от активности для воды опытного образца №3 «Чудо-йогурт».

Так как кислотность и перекисное число йогуртных продуктов является показателями процесса окисления липидов, то при наложении графиков влияния активности воды получим усредненную зависимость скорости протекания окислительных реакций в продукте.

2.2.3 Статистическая обработка экспериментальных данных

Средняя величина \bar{X} определяется по формуле:

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_{10}}{n} = \frac{\sum x}{n}, \quad (2.5)$$

где $x_1, x_2 \dots$ - значения отдельных измерений;
 n – общее число случаев.

Среднее квадратическое отклонение σ , необходимое для определения колеблемости признака, вычисляется по следующему уравнению:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{X})^2}{n-1}}. \quad (2.6)$$

Достоверность различий между двумя обследованными группами рассчитывают по критерию t-Стьюдента:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (2.7)$$

где m' – ошибка средней величины, равная $m' = \sigma/\sqrt{n}$.

Из рисунков 2.1 и 2.3 видно, что для йогуртных продуктов жирностью 5% зависимость активность воды и кислотности продукта имеет одинаковый характер. Для определения достоверности различий величины кислотности образцов йогуртных продуктов №1 «Услада золотая» и №3 «Чудо-йогурт» при известном значении активности воды вычислили критерий t-Стьюдента (таблица 2.21).

Таблица 2.21 - Расчет критерия t-Стьюдента для определения достоверности различий кислотности йогуртных продуктов, жирностью 5,1%.

a_w , доли ед.	Йогуртный продукт						t
	№1 «Услада золотая»			№3 «Чудо-йогурт»			
	$\sum (x - \bar{X})^2$	σ	m'	$\sum (x - \bar{X})^2$	σ	m'	
0,98	3,7624	0,87	0,36	0,994	0,46	0,19	57,66
0,83	1,217	0,49	0,20	0,8995	0,42	0,17	25,49
0,42	0,3258	0,26	0,11	2,6282	0,73	0,3	815,23
0,038	0,4313	0,29	0,12	1,492	0,55	0,22	425,58

Так как граничное значение критерия t-Стьюдента при числе степеней свободы $n'=10$ равное 2,23 [16] меньше полученных расчетных значений,

следует, что обнаруженные различия кислотности йогуртных продуктов №1 «Услада золотая» и №3 «Чудо-йогурт» достоверны (приложение А).

Для определения колеблемости показателя перекисного числа йогуртных продуктов вычислили среднее квадратическое отклонение; данные расчетов сведены в таблице 2.22.

Таблица 2.22 - Расчет среднеквадратического отклонения перекисного числа йогуртных продуктов.

a_w , доли ед.	Йогуртный продукт					
	№1 «Услада золотая»		№2 «Нежный»		№3 «Чудо-йогурт»	
	$\sum(x - \bar{X})^2$	σ	$\sum(x - \bar{X})^2$	σ	$\sum(x - \bar{X})^2$	σ
0,98	$6,3 \cdot 10^{-7}$	0,0004	$10,3 \cdot 10^{-7}$	0,0005	$174,8 \cdot 10^{-7}$	0,0019
0,83	$47,6 \cdot 10^{-7}$	0,0010	$81 \cdot 10^{-7}$	0,0013	$297,3 \cdot 10^{-7}$	0,0024
0,42	$282 \cdot 10^{-7}$	0,0024	$21,4 \cdot 10^{-7}$	0,0007	$116,2 \cdot 10^{-7}$	0,0015
0,038	$77,4 \cdot 10^{-7}$	0,0012	$8616,6 \cdot 10^{-7}$	0,0131	$31 \cdot 10^{-7}$	0,0008

Таким образом, получили данные о том, что перекисное число у йогуртных продуктов в среднем составляет:

1) для образца №1 «Услада золотая»

- $0,0459 \pm 0,0004\%$ при $a_w = 0,98$,
- $0,0678 \pm 0,001\%$ при $a_w = 0,83$,
- $0,1663 \pm 0,0024\%$ при $a_w = 0,42$,
- $0,1414 \pm 0,0012\%$ при $a_w = 0,038$;

2) для образца №2 «Нежный»

- $0,0618 \pm 0,0005\%$ при $a_w = 0,98$,
- $0,0815 \pm 0,0013\%$ при $a_w = 0,83$,
- $0,055 \pm 0,0007\%$ при $a_w = 0,42$,
- $0,1917 \pm 0,0131\%$ при $a_w = 0,038$;

3) для образца №3 «Чудо-йогурт»

- $0,04 \pm 0,0019\%$ при $a_w = 0,98$,
- $0,0547 \pm 0,0024\%$ при $a_w = 0,83$,
- $0,1619 \pm 0,0015\%$ при $a_w = 0,42$,
- $0,1984 \pm 0,0008\%$ при $a_w = 0,038$.

Из рисунков 2.4 и 2.6 видно, что для йогуртных продуктов жирностью 5% зависимость активность воды и перекисного числа продукта имеет подобный характер. Для определения достоверности различий величины перекисного числа образцов йогуртных продуктов №1 «Услада золотая» и №3 «Чудо-йогурт» при известном значении активности воды рассчитали критерий t-Стьюдента (таблица 2.23).

Таблица 2.23 - Расчет критерия t-Стьюдента для определения достоверности различий перекисного числа йогуртных продуктов, жирностью 5,1%.

a _w , доли ед.	Ошибка средней m'		Критерий t-Стьюдента
	для образца №1 «Услада золотая»	для образца №3 «Чудо-йогурт»	
0,98	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$7,8 \cdot 10^{-4}$	7,41
0,83	$4,1 \cdot 10^{-4}$	$9,8 \cdot 10^{-4}$	12,33
0,42	$9,8 \cdot 10^{-4}$	$6,1 \cdot 10^{-4}$	3,81
0,038	$4,9 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-4}$	96,49

Из данных таблицы 2.23 следует, что обнаруженные различия в показателе перекисного числа йогуртных продуктов №1 «Услада золотая» и №3 «Чудо-йогурт» при определенном значении активности воды достоверны (число степеней свободы n'=10, приложение А) [16].

2.3 Исследование процессов микробиологической порчи

Исследование образцов йогуртных продуктов на предмет развития плесеней и бактерий проводили путем высева разведений (1:10) на питательные среды.

В качестве среды для культивирования плесеней использовали среду Сабуро, бактерий – среду агар [4].

Окрашивание мазков проводили по методу Грама с использованием йодированного спирта (2 части 5%-ного раствора йода и 50 частей этанола 96%-ного) [4].

Полученные в результате исследования данные представлены в таблице 2.24, 2.25 (интенсивность развития микроорганизмов оценивали по 10-бальной шкале).

Таблица 2.24 – Характеристика роста микроорганизмов на среде Сабуро.

Йогуртный продукт	Интенсивность роста микроорганизмов, их характеристика *			
	$a_w = 0,98$	$a_w = 0,84$	$a_w = 0,42$	$a_w = 0,038$
№1 «Улада золотая»	сплошной рост микроорганизмов (грамотрицательные, фото 1) – 8 баллов	мелкие слизневые колонии (грамотрицательные) – 5,5 баллов	-	-
№2 «Нежный»	сплошной рост по всей среде, 6 мелких колоний желтого цвета (грамотрицательные, фото 2) – 7,5 баллов	белые слизневые колонии (грамотрицательные, фото 7) – 6,5 баллов	-	-
№3 «Чудо-йогурт»	сплошной рост, белый слизневой покров, (грамотрицательные, фото 3) – 8,5 баллов	белые слизневые колонии, белые колонии расплывчатой формы (грамотрицательные, фото 8) – 6 баллов	-	-

Таблица 2.25 - Характеристика роста микроорганизмов на среде агар.

Йогуртный продукт	Интенсивность роста микроорганизмов, их характеристика *			
	$a_w = 0,98$	$a_w = 0,84$	$a_w = 0,42$	$a_w = 0,038$
№1 «Услада золотая»	сплошной рост микроорганизмов, 4 колонии (грамотрицательные) – 8 баллов	много колоний микроорганизмов (грамотрицательные, фото 10) – 6 баллов	-	-
№2 «Нежный»	сплошной рост микроорганизмов, сетчатая колония (грамотрицательные, фото 9) – 8,5 баллов	бледно-белые колонии, выросшие по всей среде (грамотрицательные) – 5,5 баллов	-	-
№3 «Чудо-йогурт»	сплошной рост микроорганизмов розово-коричневого цвета (фото 4, 5), 3 колонии желтого цвета (грамотрицательные, овальной формы, фото 6) – 9 баллов	много колоний, рассредоточенных по всей среде (грамотрицательные) – 4,5 баллов	-	-

* Примечание: протокол исследований представлен в приложении Б.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1) рост плесеней и бактерий при активности воды йогуртного продукта меньше 0,42 не происходит, что свидетельствует об отсутствии свободной влаги в продукте, способствующей развитию микробиологической порчи;

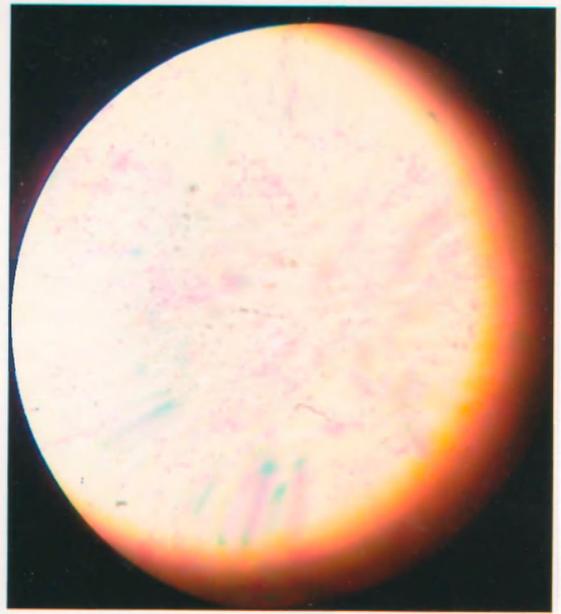
2) при активности равной 0,84 интенсивность роста бактерий в среднем по образцам йогуртных продуктов составляет 5,3 баллов, плесеней – 6 баллов;

3) при активности равной 0,98 интенсивность развития микроорганизмов в среднем по образцам йогуртных продуктов составляет для бактерий – 8,5 баллов, для плесеней – 8 баллов;

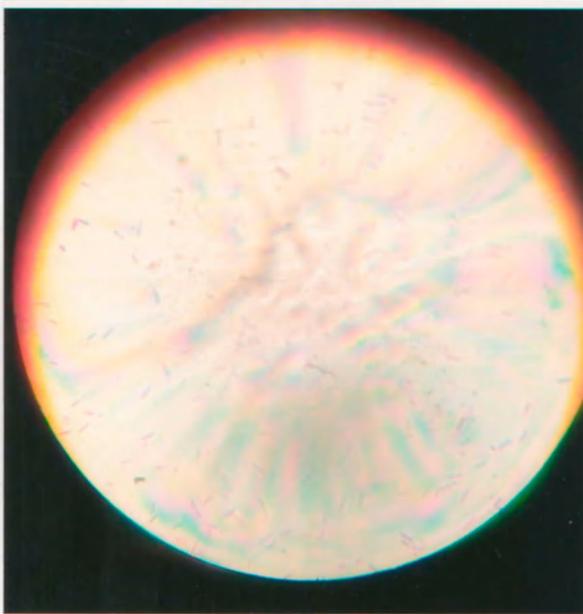
4) при активности воды в пределах от 0,84 до 0,98 относительная скорость интенсивности роста бактерий увеличилась в 1,6 раза, развития плесеней – в 1,3 раза.



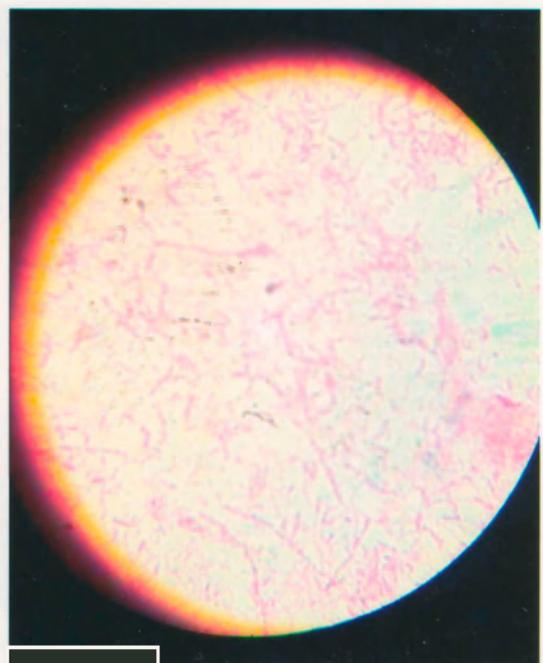
Φοτο 1



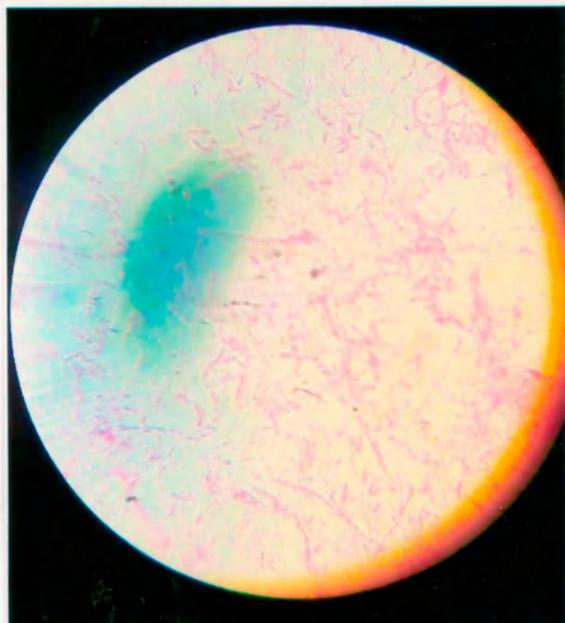
Φοτο 2



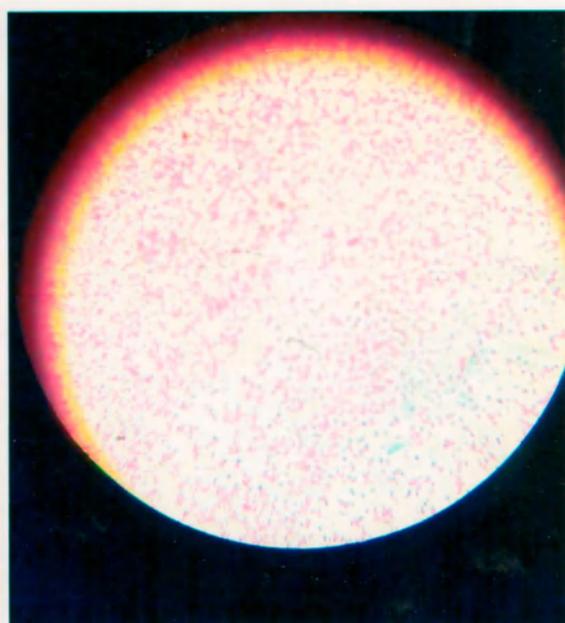
Φοτο 3



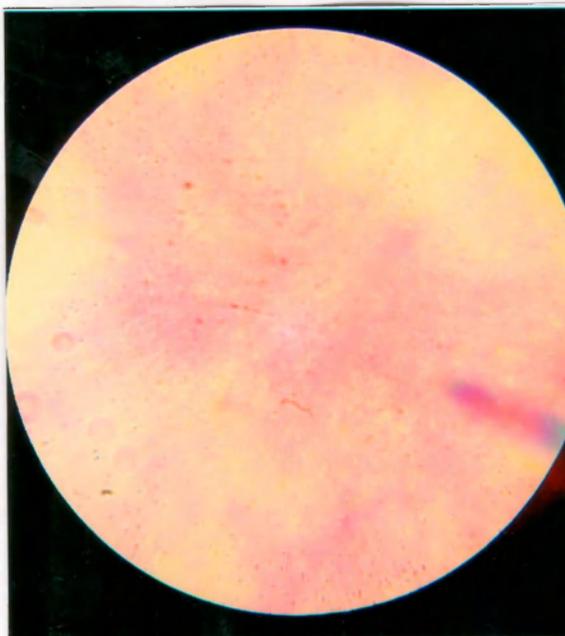
Φοτο 4



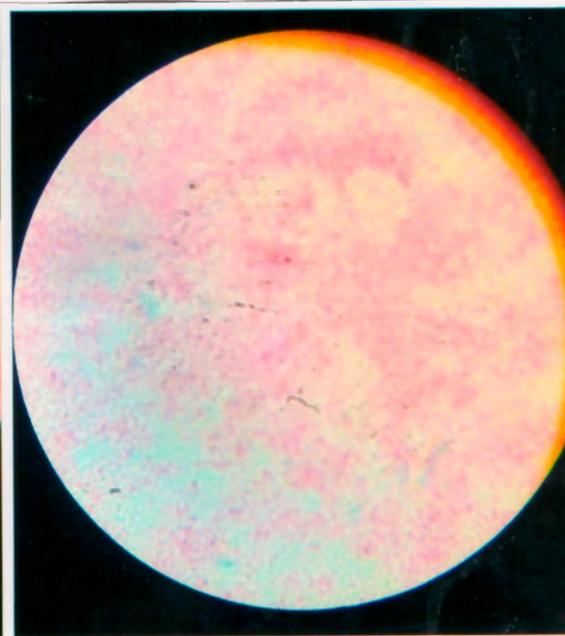
ΦΟΤΟ 5



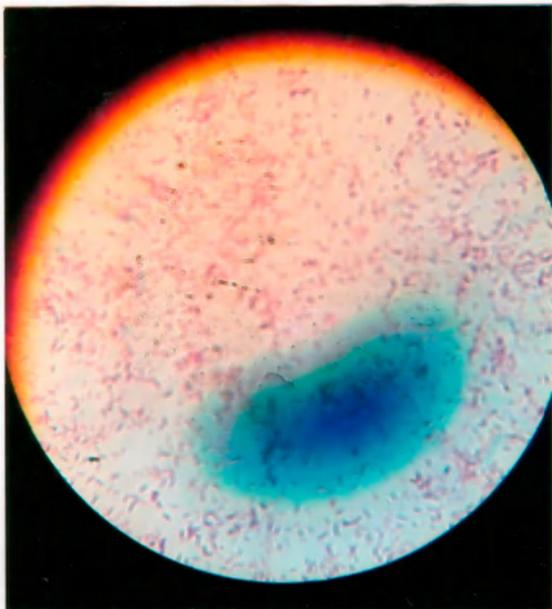
ΦΟΤΟ 6



ΦΟΤΟ 7



ΦΟΤΟ 8



Φοτο 9



Φοτο 10

3 Выводы

Используя полученные в результате исследования данные зависимости активности воды йогуртных продуктов на протекание химических и микробиологических процессов, построили график, характеризующий влияние активности воды на интенсивность реакций, вызывающих порчу продукта (рисунок 3.1-3.3).

На рисунках 3.1-3.3 выделена область, соответствующая минимально допустимому значению изменения активности воды йогуртного продукта по показателю кислотности продукта: для образца №1 «Услада золотая» $a_w = 0,908$; для образца №2 «Нежный» $a_w = 0,807$; для образца №3 «Чудо-йогурт» $a_w = 0,909$.

График зависимости относительной скорости процесса окисления липидов от изменения активности воды в йогуртном продукте описывается приближенным уравнением 3-го порядка:

- для образца «Услада золотая», жирностью 5,1%

$$v = 53,749 a_w^3 - 273,88 a_w^2 + 139,5 a_w + 80,742;$$

- для образца «Нежный», жирностью 5%

$$v = -447,47 a_w^3 + 802,94 a_w^2 - 464,97 a_w + 111,53;$$

- для образца «Чудо-йогурт», жирностью 5,1%

$$v = 440,01 a_w^3 - 806,69 a_w^2 + 305,85 a_w + 65,873.$$

Сравнение графиков влияния активности воды на скорость протекания реакций, приводящих к некондиционности продукта, дает возможность сделать следующие выводы:

1) для йогуртных продуктов 5,1%-ной жирности динамика протекания окислительного процесса является одинаковой, что доказывается также при определении достоверности различий значения кислотности и перекисного числа по критерию t-Стьюдента (таблица 2.21, 2.23);

2) хранение йогуртного продукта при температуре, превышающей регламентированной техническими условиями, оказывает значительной влияние на динамику развития липидного окисления при изменении активности воды продукта (образец №2 «Нежный»);

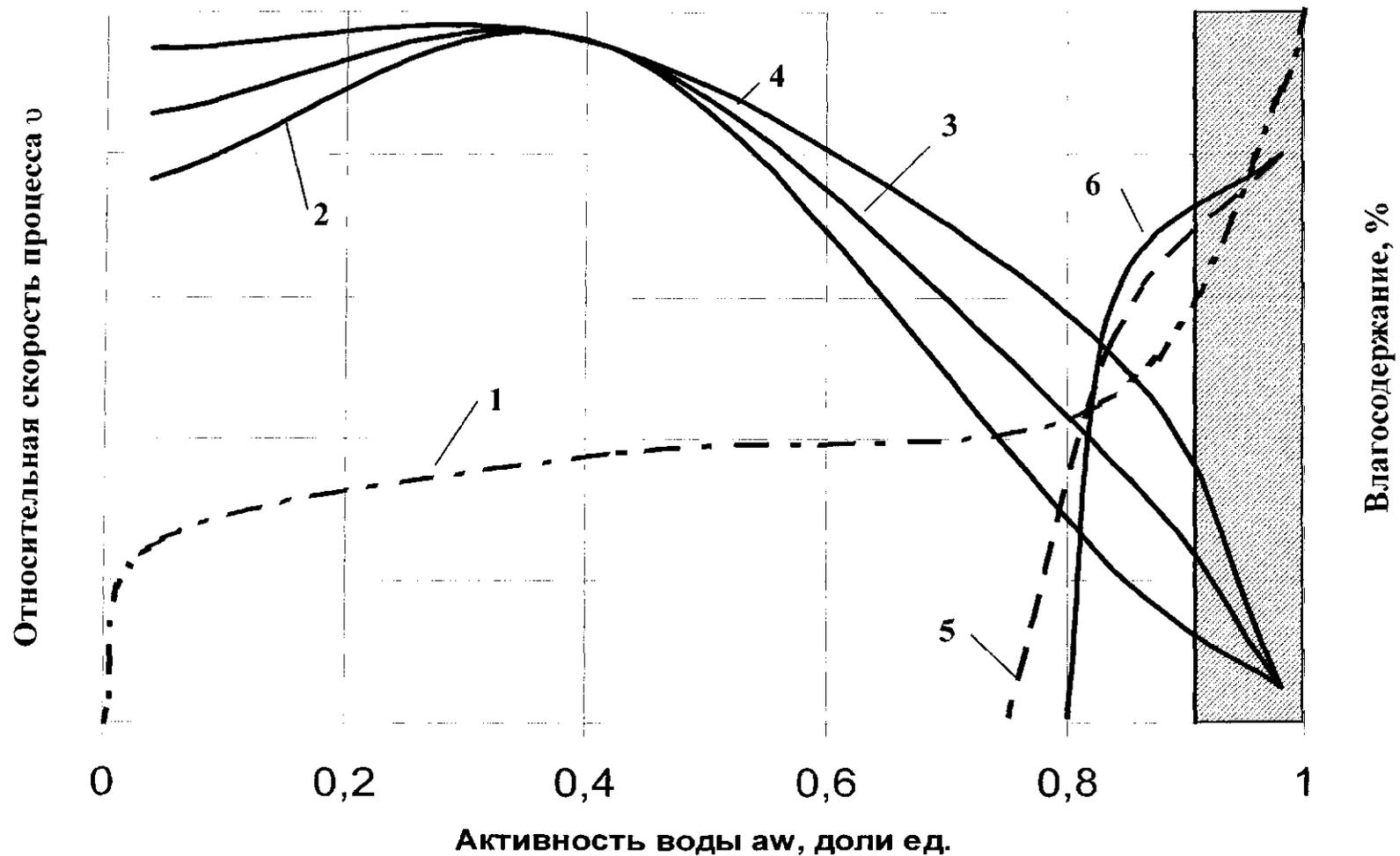
3) для йогуртных продуктов 5,1%-ной жирности интенсивность образования кислот при $a_w > 0,4$ имеет обратно пропорциональный характер, при $a_w = 0,25 \div 0,4$ достигает максимума, а дальнейшее уменьшение активности воды продукта ведет к снижению их содержания;

4) интенсивное увеличение скорости протекания окислительных процессов в йогуртных продуктах наблюдается при $a_w > 0,45$;

5) приблизительная динамика развития процесса липидного окисления при изменении активности воды для йогуртных продуктов при максимальной температуре хранения 25°C и жирности 5,1% может быть определена по следующему уравнению, выведенному усреднением относительной скорости процесса:

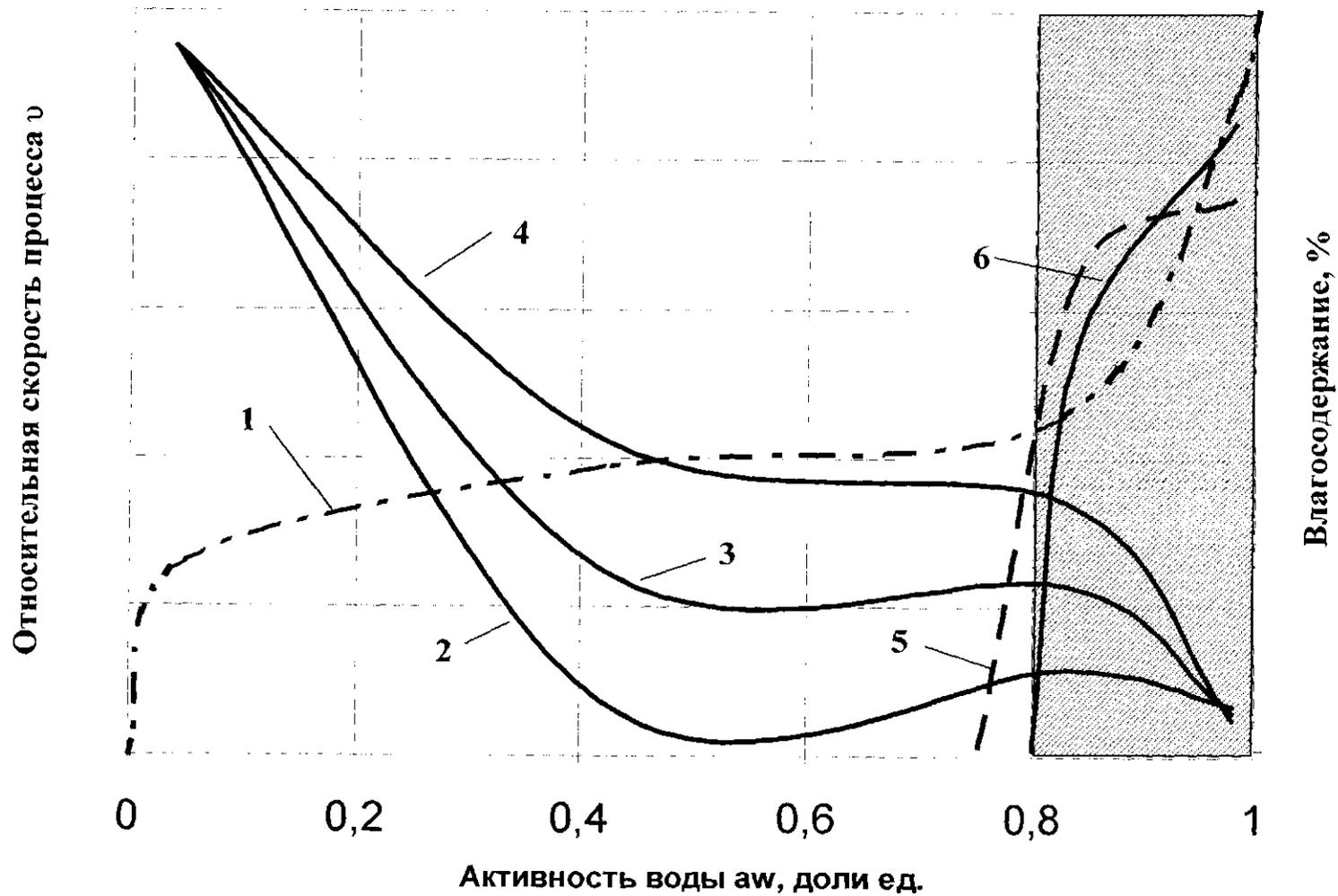
$$v_{\text{ок.проц.}} = 267,97 a_w^3 - 570,62 a_w^2 + 232,48 a_w + 72,978;$$

б) активный рост плесеней и бактерий начинается при значении $a_w = 0,8$ и выше.



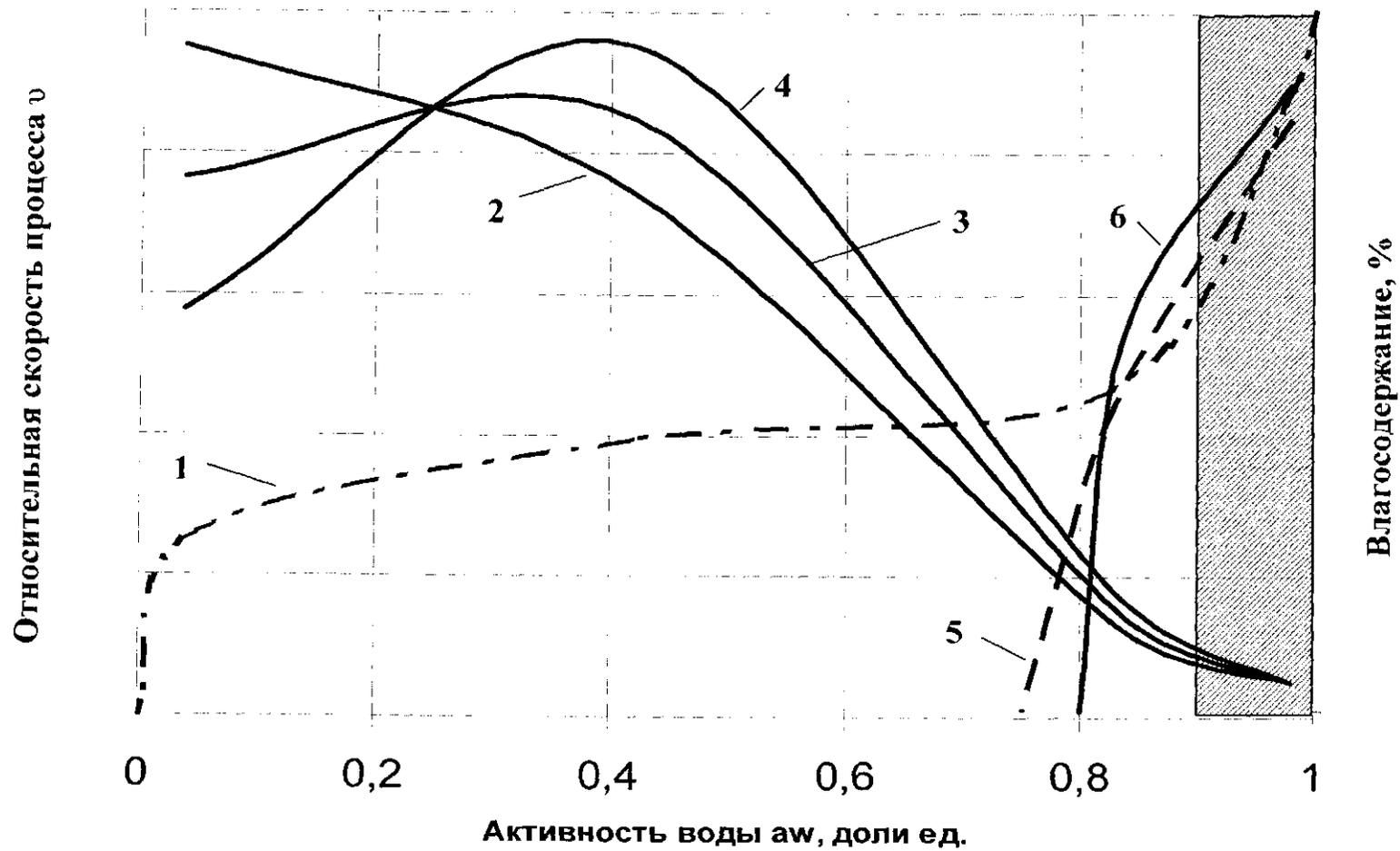
1 – изотерма десорбции; 2 – образование перекисей; 3 – окислительные процессы; 4 – содержание кислот; 5 – развитие плесеней; 6 – развитие бактерий

Рисунок 3.1 – Влияние активности воды на интенсивность процессов, вызывающих порчу йогуртного продукта, для образца №1 «Услада золотая».



1 – изотерма десорбции; 2 - образование перекисей; 3 – окислительные процессы; 4 – содержание кислот; 5 – развитие плесеней; 6 – развитие бактерий

Рисунок 3.2 - Влияние активности воды на интенсивность процессов, вызывающих порчу йогуртного продукта, для образца №2 «Нежный».



1 – изотерма десорбции; 2 - образование перекисей; 3 – окислительные процессы; 4 – содержание кислот; 5 – развитие плесеней; 6 – развитие бактерий

Рисунок 3.3 - Влияние активности воды на интенсивность процессов, вызывающих порчу йогуртного продукта, для образца №3 «Чудо-йогурт».

4 Заключение

Целью настоящей магистерской диссертации было изучение динамики влияния активности воды йогуртных продуктов на интенсивность протекания химических и микробиологических процессов, вызывающих их порчу.

В первой части магистерской диссертации был произведен литературный обзор, в котором раскрыта значимость изменения показателя активности воды на качество пищевых продуктов, а также описан механизм протекания окислительных процессов и причины микробиологической порчи в молочных продуктах.

Во второй части магистерской диссертации были представлены экспериментальные исследования, которые разделены на несколько этапов.

На первом этапе осуществлена система регулирования активности воды йогуртных продуктов, а также выявлена зависимость влагосодержания продукта от относительной влажности воздуха.

На втором этапе мы исследовали динамику развития процесса окисления липидов в йогуртных продуктах при различных значениях активности воды продукта.

На третьем этапе произвели оценку возможности и интенсивности роста микроорганизмов в йогуртных продуктах с разной величиной активности воды.

В ходе научно-исследовательской работы были выполнены все поставленные задачи, таким образом, цель данной диссертации выполнена.

По теме диссертации опубликовано две научные статьи в «Вестнике» ИнЕУ (приложение В).

Список использованных источников

- 1 Гинзбург А.С., Савина И.М. Массовлагообменные характеристики пищевых продуктов. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1982. – 280 с.
- 2 Камербаев А.Ю. Роль воды в пищевых продуктах и ее функции. – Алматы, 2001. 203 с.
- 3 Моик И.Б. и др. Термо- и влагометрия пищевых продуктов: Справочник. – М.: Агропромиздат, 1988. – 304 с.: ил.
- 4 Артемьева С.А. и др. Микробиологический контроль мяса животных, птицы, яиц и продуктов их переработки: Справочник / С.А. Артемьева, Т.Н. Артемьева, А.И. Дмитриев, В.В. Дорутина. – М.: Колос, 2003. – 288 с.
- 5 Практикум по микробиологии. Под ред. Н.С. Егорова. Учебное пособие. М., Изд-во Моск. ун-та, 1976. 307 с. с ил. и предм.указ.
- 6 Генкель П.А. Микробиология с основами вирусологии. Учеб. пособие для студентов биол. фак. пед. ин-тов. М., «Просвещение», 1974. 271 с. с ил.; 8 л. ил.
- 7 Великая Е.И., Суходол В.Ф. Лабораторный практикум по курсу общей технологии бродильных производств (общие методы контроля). – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 312 с.
- 8 Горбатова К.К. Химия и физика молока: Учебник для вузов. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 288 с.: ил.
- 9 Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. – 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2003. – 320 с.: ил.
- 10 Теппер Е.З. Практикум по микробиологии: Учебное пособие для вузов/Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; Под ред. В.К. Шильниковой. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.: ил.
- 11 Асонов Н.Р. Микробиология. – М.: Колос, 1980. – 312 с., ил.
- 12 Микробиология продуктов животного происхождения/ Г.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер и др. Пер. с нем. – М.: Агропромиздат, 1985. – 592с.
- 13 Крусь Г.Н., Шалыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов / Под общ.редакцией А.М. Шалыгиной.- М.:КолосС, 2002. – 368 с.: ил.
- 14 Краткий справочник по химии. – 4-е изд., исправ. и доп. – Под ред. О.Д.Куриленко. – Киев: «Наукова думка», 1974.
- 15 Срок годности пищевых продуктов. Расчет и испытание. – Под ред. Р.Стеле. – М.: Профессия, 2005 – 568 с.
- 16 <http://chemstat.com.ru/node/17>,
<http://econometr2.tamb.ru/16.html>,
<http://chemstat.com.ru/node/17>.

Приложение А

Критические значения коэффициента Стьюдента (t-критерия) для различной доверительной вероятности p и числа степеней свободы n' :

n'	p							
	0.80	0.90	0.95	0.98	0.99	0.995	0.998	0.999
1	3.0770	6.3130	12.7060	31.820	63.656	127.656	318.306	636.619
2	1.8850	2.9200	4.3020	6.964	9.924	14.089	22.327	31.599
3	1.6377	2.35340	3.182	4.540	5.840	7.458	10.214	12.924
4	1.5332	2.13180	2.776	3.746	4.604	5.597	7.173	8.610
5	1.4759	2.01500	2.570	3.649	4.0321	4.773	5.893	6.863
6	1.4390	1.943	2.4460	3.1420	3.7070	4.316	5.2070	5.958
7	1.4149	1.8946	2.3646	2.998	3.4995	4.2293	4.785	5.4079
8	1.3968	1.8596	2.3060	2.8965	3.3554	3.832	4.5008	5.0413
9	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	3.6897	4.2968	4.780
10	1.3720	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	3.5814	4.1437	4.5869
11	1.363	1.795	2.201	2.718	3.105	3.496	4.024	4.437
12	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0845	3.4284	3.929	4.178
13	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.1123	3.3725	3.852	4.220
14	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.976	3.3257	3.787	4.140
15	1.3406	1.7530	2.1314	2.6025	2.9467	3.2860	3.732	4.072
16	1.3360	1.7450	2.1190	2.5830	2.9200	3.2520	3.6860	4.0150
17	1.3334	1.7396	2.1098	2.5668	2.8982	3.2224	3.6458	3.965
18	1.3304	1.7341	2.1009	2.5514	2.8784	3.1966	3.6105	3.9216
19	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609	3.1737	3.5794	3.8834
20	1.3253	1.7247	2.08600	2.5280	2.8453	3.1534	3.5518	3.8495
21	1.3230	1.7200	2.2.0790	2.5170	2.8310	3.1350	3.5270	3.8190
22	1.3212	1.7117	2.0739	2.5083	2.8188	3.1188	3.5050	3.7921
23	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073	3.1040	3.4850	3.7676
24	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7969	3.0905	3.4668	3.7454
25	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874	3.0782	3.4502	3.7251
26	1.315	1.705	2.059	2.478	2.778	3.0660	3.4360	3.7060
27	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707	3.0565	3.4210	3.6896
28	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633	3.0469	3.4082	3.6739
29	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564	3.0360	3.3962	3.8494
30	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500	3.0298	3.3852	3.6460

Приложение Б

Справка

Выдана Никишковой Евгении Владимировне в том, что она действительно с 15 марта по 13 апреля 2008 года проводила экспериментальную часть научно-исследовательской работы (магистерской диссертации) на кафедре «Прикладная биотехнология» Инновационного Евразийского университета.

Данная справка выдана для предъявления в ГАК.

Зав. лабораторией микробиологии
и биотехнологии кафедры

«Прикладная биотехнология»



Х.Х. Рафикова

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЙ

№ 1 от «5» мая 2008 г.

Зав. лабораторией кафедры микробиологии и биотехнологии «Прикладная биотехнология» - Рафикова Х.Х.

Магистрант кафедры «Прикладная биотехнология» - Никишкова Е.В.

Тема магистерской диссертации – «Изучение гидратационных особенностей национальных кисломолочных продуктов».

Сроки проведения экспериментальной части научно-исследовательской работы: с 15 марта по 13 апреля 2008 г.

Целью экспериментов явилось исследование образцов йогуртных продуктов на предмет развития плесеней и бактерий при различных значениях активности воды продукта ($a_w = 0,98; 0,83; 0,42; 0,038$ доли ед.).

Опытные образцы продуктов:

№1 «Услада золотая» – продукт молочно-растительный йогуртный пастеризованный ароматизированный, с соком клубники, жирность 5,1 %, Ehrmann, температура хранения от +2 до +20°C;

№2 «Нежный» – продукт йогуртный пастеризованный, с соком клубники, сливочный, жирность 5 %, Camruba, температура хранения от +4 до +25°C;

№3 «Чудо-йогурт» – йогуртный продукт молочно-сливочный термизированный с персиком и маракуйей, жирность 5,1 %, температура хранения от 0 до +25°C.

Исследование интенсивности роста и развития микроорганизмов проводили путем *высева разведений* (1:10) на *питательные среды* в чашках Петри (интенсивность развития оценивали по 10-бальной шкале).

В качестве среды для культивирования плесеней использовали среду Сабуро (выдерживали 5 суток при температуре 25°C), бактерий – среду агар (выдерживали 24-48 часов при температуре 37°C). Раствором для разведений служил физ.раствор – натрия хлорид NaCl (*Sodium Chloride*) 0,9 % (9 г хлорида натрия NaCl помещают в мерную колбу на 1 л и доводят объем до метки водой для инъекций).

Приготовление питательных сред:

1) среда Сабуро – к 1 дм³ дистиллированной воды добавляют 40 г глюкозы, 10 г пептона, 18 г агара. Смесь подогревают, периодически помешивая, до расплавления компонентов, охлаждают до 45-55°C. Разливают в мерные колбы и стерилизуют 15 мин при 121±1°C. Основу среды хранят при температуре 4±2°C не более 14 суток.

2) среда агар – препарат (питательный агар для культивирования микроорганизмов – сухой) в количестве 47 г размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 1-2 мин до полного растворения агара, фильтруют, разливают и стерилизуют при 121°C в течение 20 мин.

Состав сухого агара (г/л): кислотный гидролизат казеина - 20,0; ЭКД - 5,0; агар – 11,2; NaCl – 7,7.

Окрашивание мазков проводили по методу Грама с использованием йодированного спирта (2 части 5%-ного раствора йода и 50 частей этанола 96%-ного):

- фиксированный на огне мазок окрашивают генцианфиолетом в течение 2 мин;

- сливают краску наливают раствор Люголя на 2 мин (мазок приобретает серо-бурую окраску);

- сливают раствор Люголя и действуют на мазок 96%-ным раствором спирта в течение 30 сек;

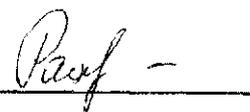
- промывают водой;

- окрашивают фуксином 2 мин;

- промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микрокопируют.

Микроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа БИОМЕД С-1 при 100-кратном увеличении с использованием иммерсионного масла (сделаны фото камерой с разрешением 2,0Мп - *megapixels*).

Зав. лабораторией
микробиологии и биотехнологии
кафедры «Прикладная биотехнология»



X.X. Рафикова

Магистрант кафедры
«Прикладная биотехнология»



Е.В. Никишкова

Приложение В

Қазақстан Республикасының
Білім және ғылым министрлігі



Министерство образования и науки
Республики Казахстан

«ИННОВАЦИЯЛЫҚ ЕУАЗИЯ
УНИВЕРСИТЕТІ»
МЕКЕМЕСІ

УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИННОВАЦИОННЫЙ
ЕВРАЗИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

140003, Павлодар қ., Ломов к. 45
тел.: (8 318 2) 47 09 47, 45 22 11 факс 57 17 67, 57 12 55
URL: <http://www.ineu.edu.kz> E-mail:
cancelar@ineu.edu.kz

140003, г. Павлодар, ул. Ломова, 45
тел.: (8 318 2) 47 09 47, 45 22 11, факс (8 318 2) 57 17 67
URL: <http://www.ineu.edu.kz> E-mail: cancelar@ineu.edu.kz

2 шілде 2008г. № 9

СПРАВКА

Выдана Никитину Е.Б.

В.И.Иванову

в том, что он (-а, -и) является (-ются) действительным автором (-ами) статьи
«В.И.Иванов»
«Кризис менеджера в условиях неопределенности»,
которая прошла экспертную оценку и включена для опубликования в
2 номере 2008 года научного журнала «Вестник
Инновационного Евразийского университета».

Данная справка выдана для предъявления в ГАК

Заместитель председателя
редакционного совета журнала

Е.Б. Никитин

Подпись Никитина Е.Б. удостоверяю
начальник отдела кадров

Г.А. Крылова

2 июля 2008г.

Исп. Борис Н.А.

