



ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНЫХ ПРОТЕИНОГЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ В МОЛОКЕ ПРИ СТЕРИЛИЗАЦИИ УСКОРЕННЫМИ ЭЛЕКТРОНАМИ

Статья ретрактирована 02.09.2019
(протокол № 10 от 02.09.2019 заседания редакционной коллегии журнала "Аграрный вестник Урала")

А. С. КРИВОНОВОГА, кандидат биологических наук, доцент,
А. А. БАРАНОВА, кандидат биологических наук, доцент,
Уральский государственный аграрный университет,
А. Н. СУПОНЬКИНА, аспирант,

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина
(620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19; тел.: 89120321789),

Н. Н. ДУДКИНА, старший научный сотрудник,

М. СУЗДАЛЬЦЕВА, аспирант, Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт,
(620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а),

К. В. МОИСЕЕВА, аспирант, Уральский государственный аграрный университет
(620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, д. 42)

Ключевые слова: радиационные технологии, стерилизация, продукты питания, молоко, аминокислоты, сыропригодность, пищевая ценность.

В животноводческом секторе оптимизация производства биологически безопасных продуктов питания, соответствующих стандартам качества, требует внедрения новых технологий и методов на всех этапах. В настоящее время известно множество различных способов обработки и переработки сырого молока для повышения его качества и получения необходимых свойств. Радиационная обработка молока имеет ряд преимуществ перед тепловой, так как уничтожение микрофлоры происходит при сохранении термолабильных ценных питательных веществ и витаминов. Установлено, что при радиации молока импульсным пучком ускоренных электронов высокой энергии при поглощенной дозе 10 кГр бактериальная обсемененность обработанного молока снижена до соответствия показателям высшего сорта по ГОСТ. При этом было обнаружено, что в опытных образцах молока увеличилось количество олигопептидов и свободных аминокислот. Также отмечено изменение класса сыропригодности по сычужно-бродильной пробе с неудовлетворительного до хорошей годности. Предполагается, что увеличение содержания олигопептидов и свободных протеиногенных аминокислот происходит за счет распада первичной структуры молекул нативных полипептидов молока. При облучении проб в дозах, достаточных для элиминации микрофлоры, содержание отдельных свободных аминокислот в среднем увеличивается на 9–13 %. Содержание некоторых серосодержащих незаменимых аминокислот увеличилось в среднем на 11 %. Предполагается, что эффект изменения соотношения «полипептиды – аминокислоты» при радиационной стерилизации может использоваться для повышения биологической ценности молока при полном обеспечении его микробиологической безопасности, что имеет широкое прикладное значение. Применение радиационных технологий для обработки молока является перспективным, так как позволяет обеспечить микробиологическую безопасность молока, не снижая пищевой ценности продукта.

A CHANGE IN THE CONTENT OF FREE PROTEINOGENIC AMINO ACIDS IN MILK DURING STERILIZATION BY ACCELERATED ELECTRONS

A. S. KRIVONOGOVA, candidate of biological sciences, associate professor,

A. A. BARANOVA, candidate of biological sciences, associate professor, Ural State Agrarian University,

A. N. SUPONKINA, graduate student, Ural Federal University of the first President of Russia B. N. Yeltsin

(19 Mira Str., 620002, Ekaterinburg; tel.: 89120321789),

N. N. DUDKINA, senior researcher,

M. SUZDALTSEVA, graduate student, Ural Scientific Research Veterinary Institute

(112a Belinskogo Str., 620142, Ekaterinburg),

K. V. MOISEEVA, graduate student, Ural State Agrarian University

(42 K. Liebknechta Str., 620075, Ekaterinburg)

Keywords: radiation technology, sterilization, food, milk, amino acids, cheese suitability, nutritional value.

In the livestock sector to optimize the production of biologically safe food products of appropriate quality standards, requires the implementation of new technologies and methods at all stages. Currently, there are many different ways of handling and processing raw milk to increase its quality and to obtain the desired properties. Radiation processing of milk has a number of advantages over heat, as the destruction of microflora is happening when you save valuable thermolabile nutrients and vitamins. It is established, that upon radurization milk pulsed beam of accelerated high energy electrons at absorbed dose of 10 kGy bacterial contamination of processed milk is reduced to matching the performance of the highest grade according to GOST. It was discovered that in the experimental milk samples increased the number of oligopeptides and free amino acids. Also marked the change of class of cheese suitability on rennet-fermentation test with satisfactory to good suitability. It is assumed that the increase in the content of oligopeptides and free proteinogenic amino acids is due to the decay of the primary structure of the native molecules of polypeptides of milk. The irradiation of samples at doses sufficient for the elimination of microflora, the contents of individual free amino acids in the average increases by 9–13 %. The content of some sulfur-containing essential amino acids increased on average by 11 %. It is assumed that the effect of changing the ratio “polypeptide – amino acids” during radiation sterilization can be used to increase the biological value of milk in full to ensure its microbiological safety, which is of wide practical importance. Application of radiation technology for processing of milk is promising, as it allows to ensure microbiological safety of milk without compromising nutritional value of the product.

Положительная рецензия представлена И. А. Шкуратовой, доктором ветеринарных наук, профессором, директором Уральского научно-исследовательского ветеринарного института.



В условиях запрета ввоза в Российскую Федерацию сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия в соответствии с Указом Президента РФ от 6 августа 2014 г. обострились проблемы импортозамещения основных продовольственных товаров (сыр, мясо, молоко, овощи, фрукты и др.) [6]. В животноводческом секторе оптимизация производства биологически безопасных продуктов питания, соответствующих стандартам качества, требует внедрения новых технологий и методов на всех этапах: от выведения новых пород животных и производства кормов до изготовления готовой молочной, мясной и другой продукции. К факторам внешней среды, затрудняющим получение биологически безопасной продукции высокого качества можно отнести неблагоприятное экологическое состояние районов, в которых расположены животноводческие хозяйства. В промышленных регионах, а также в областях, входящих в так называемую зону рискованного земледелия, фермерам приходится сталкиваться с рядом трудностей, вызванных техногенным загрязнением биоресурсов либо климатическими особенностями местности, что приводит к обеднению кормов, накоплению в них вредных веществ, возрастанию адаптационной нагрузки, ухудшению здоровья животных и в итоге снижению качества получаемой мясной и молочной продукции. Проведенные исследования по изучению состояния крупного рогатого скота в разных экологических зонах показали, что адаптационный резерв у животных достаточно высок, о чем свидетельствует высокий уровень продуктивности и показатели воспроизводства. В процессе адаптации животных к сложившимся экологическим условиям в первую очередь происходит ряд общих изменений, проявляющихся угнетением гемопоэза, иммуносупрессией, нарушением белкового обмена [9]. Эти изменения влияют на белковый и аминокислотный состав получаемого молока. Кроме того, на многих предприятиях применяются устаревшие технологии, а оборудование требует модернизации. Известно, что использование аппаратов машинного доения и полностью автоматизированных современных доильных залов и систем сбора и хранения молока на ферме уменьшает контаминацию молока патогенной и условно-патогенной микрофлорой, увеличивая тем самым срок его хранения. И наоборот, загрязнение сырого молока микроорганизмами ведет к потере качества молока, снижает его ценность как сырья для производства кисломолочных продуктов, сыров, детского питания и прочих видов молочных продуктов [8]. Таким образом, в условиях, когда получение высококачественного молока с заданными свойствами является проблематичным, возрастает важность современных технологий переработки. Проблема асептического разлива или стерилизации тары и упа-

ковки также требует решения, так как на этом технологическом этапе возможно внесение микроорганизмов в уже стерилизованный продукт, что ведет к его порче. Поиск оптимального метода стерилизации молока в закрытой готовой упаковке является одним из перспективных направлений [1, 3, 4].

Несмотря на то, что на данный момент известно множество методов и способов обработки и переработки молока с целью повышения качества и изменения его свойств, в производстве широко и повсеместно применяются лишь некоторые способы, такие как термическая ультрапастеризация, термическая стерилизация, охлаждение для снижения микробной обсемененности; сепарирование для разделения на жировую и белковую фракции, обработка полисахаридами для выделения казеина и т. д. Внедрение новых стандартов качества требует от производителей молока поиска и применения новых технологий на всех этапах производственного процесса. В связи с этим поиск альтернативных методов обработки молока становится все более актуальным в молочной отрасли сельского хозяйства. К альтернативным методам можно отнести обеззараживание молока с помощью ультрафиолетового излучения, обработку ультразвуком, токами высокого напряжения, а также радиационную стерилизацию и пастеризацию молока.

В настоящее время проблема обеззараживания молока решается в основном с помощью термической пастеризации, ультрапастеризации и стерилизации. Значительно реже используются различные альтернативные методы и способы, также основанные на физических процессах – облучение ультрафиолетом, ультразвуковая обработка, радиационная пастеризация и стерилизация. Каждый из способов имеет свои достоинства и недостатки. Применение электрохимических методов имеет ряд преимуществ перед тепловой стерилизацией. При стерилизации с помощью ионизирующего излучения температура стерилизуемого объекта поднимается незначительно, в связи с чем такие методы называют холодной стерилизацией [2].

Радиационный метод широко применяется для обработки термолabileльных пищевых продуктов. Его действие основано на специфичном повреждении структур и нарушении биохимических процессов в микробной клетке. Способность излучения с высокой энергией разрушать микроорганизмы без заметного повышения температуры основного вещества особенно актуальна для стерилизации медикаментов, различных сложных биологических веществ и пищевых продуктов, особенно предназначенных для длительного хранения. Применительно к радиационной обработке продукции МАГАТЭ предложены специальные термины: радиационная (4–6 кГр), радиурезация (6–10 кГр) и радиаптертизация (10–50 кГр) [10].



К критериям оценки качества молока относятся чистота, жирность, плотность, содержание белков, количество соматических клеток, бактериальная обсемененность, наличие патогенных микроорганизмов, кислотность, содержание вредных примесей (пестициды, тяжелые металлы, радионуклиды, афлатоксины), а также органолептическая характеристика [7]. Кроме того, большое значение имеет содержание в молоке аскорбиновой кислоты, витаминов, свободных аминокислот, доля незаменимых аминокислот и показатели сыропригодности. Радиационная обработка молока позволяет уменьшить количество микроорганизмов до уровня, когда они не обнаруживаются с помощью стандартных методик, но сохранность ценных питательных веществ требует дальнейшего изучения.

Белковый и аминокислотный состав молока играет большую роль в пищевой и биологической ценности самого молока и производимых из него продуктов. Важны незаменимые аминокислоты, которые не образуются в организме человека – валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан и фенилаланин; для детей незаменимыми также являются аргинин и гистидин. Диетическая ценность определяется, помимо всего прочего, соотношением полипептидов и олигопептидов, а также содержанием нежелательных аллергогенных белковых фракций. При обязательной в технологическом цикле температурной обработке молока белки подвергаются частичному разрушению. В зависимости от условий тепловой обработки степень деструкции нативных полипептидов достигает 15–27 % для коровьего молока. Режим, обеспечивающий максимально возможную сохранность полипептидных фракций молока, соответствует 76 °С в течение 5 мин. [5]. Исследование содержания полипептидов и свободных пептидогенных аминокислот в молоке, стерилизованном радиационным методом, представляется интересным для оценки достоинств и недостатков данной группы методов.

Цель и методика исследований. Цель исследований – изучение изменения количества свободных пептидогенных аминокислот в молоке, подвергнутом радиационной обработке пучком ускоренных электронов в стерилизующей дозе 10 кГр.

Для реализации указанной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) анализ аминокислотного состава, соотношения полипептидов и свободных пептидогенных аминокислот молока, подвергнутого радиации пучком ускоренных электронов, при поглощенной дозе 10 кГр;
- 2) оценка бактериальной обсемененности обработанного молока;
- 3) оценка сыропригодности молока, подвергнутого обработке импульсом ускоренных электронов.

Объектом изучения было сырое коровье молоко. Исследовалось молоко, взятое на четырех молочно-товарных фермах с однотипным содержанием и кормлением скота, расположенных в районах со схожими эколого-климатическими условиями. Отбор проб проводился из молочного танка после утреннего доения, затем в асептических условиях молоко разливали в стерильную полистироловую тару и транспортировали в термосе при температуре +4 °С. Радиурезация осуществлялась на линейном ускорителе электронов УЭЛР-10-10С2, предназначенном для радиационной стерилизации продуктов питания, медицинских изделий и других объектов. Опытные пробы подвергались воздействию импульсом ускоренных электронов с максимальной энергией не более 10 МэВ, расчетная поглощенная доза составляла 10 кГр, экспериментальная 9,6–10,2 кГр. Контрольные пробы облучению не подвергались, но находились в тех же условиях, что и опытные. Далее пробы молока исследовали в аккредитованной лаборатории, проводился микробиологический и химический анализ. Бактериальную обсемененность оценивали по показателю КМАФАнМ (количество мезофильной аэробной и факультативно анаэробной микрофлоры). КМАФАнМ определяли в соответствии с ГОСТ Р 53430-2009 методом редуктазной пробы с резазурином. Содержание несвязанных аминокислот определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Сыропригодность молока оценивалась по сычужно-бродильной пробе согласно ГОСТ Р 53430-2009. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. В ходе исследований установлено, что в опытных образцах изменилось соотношение полипептидов и свободных аминокислот. При проведении аминокислотного анализа молока выявлена тенденция к увеличению содержания большинства аминокислот в образцах, подвергнутых радиационной обработке. Так, отмечается заметное повышение содержания таких аминокислот, как аспарагиновая и глутаминовые кислоты, аланин, пролин, изолейцин, цистеин. Незначительно увеличилось процентное содержание серина, гистидина, треонина, пролина, тирозина, валина, лейцина и лизина. Статистически значимого повышения содержания в молоке триптофана, фенилаланина и оксипролина не установлено.

В большинстве проб изменения количества глицина, метионина и аргинина не выходили за рамки значений погрешности метода.

Наиболее значительные изменения отмечены в содержании пролина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, серина, аланина, изолейцина, а также се-



Таблица 1
Содержание аминокислот в пробах молока после радуризации

Аминокислота (%)	Радуризация (10 кГр)	Погрешность (опыт)	Контроль (0 Гр)	Погрешность (контроль)
Аспарагиновая кислота	0,34	0,04	0,31	0,04
Глутаминовая кислота	0,67	0,08	0,61	0,07
Серин	0,26	0,03	0,24	0,03
Глицин	0,09	0,01	0,09	0,01
Гистидин	0,11	0,01	0,1	0,01
Аргинин	0,32	0,04	0,32	0,04
Треонин	0,2	0,03	0,19	0,02
Аланин	0,28	0,03	0,25	0,03
Пролин	0,39	0,05	0,34	0,04
Тирозин	0,23	0,03	0,22	0,03
Валин	0,24	0,03	0,23	0,03
Изолейцин	0,24	0,03	0,22	0,03
Лейцин	0,23	0,03	0,22	0,03
Лизин	0,34	0,04	0,33	0,04
Цистеин	0,21	0,03	0,19	0,02
Метионин	0,11	0,01	0,11	0,01
Оксипролин	<0,15		<0,15	
Фенилаланин	<0,45		<0,45	
Триптофан	<0,15		<0,15	

Table 1
The amino acid profile of the milk samples after radurization

Amino acid (%)	Radurization (10 kGy)	Error (experience)	Control (0 Gy)	Error (control)
Aspartic acid	0.34	0.04	0.31	0.04
Glutamic acid	0.67	0.08	0.61	0.07
Serine	0.26	0.03	0.24	0.03
Glycine	0.09	0.01	0.09	0.01
Histidine	0.11	0.01	0.1	0.01
Arginine	0.32	0.04	0.32	0.04
Threonine	0.2	0.03	0.19	0.02
Alanine	0.28	0.03	0.25	0.03
Proline	0.39	0.05	0.34	0.04
Tyrosine	0.23	0.03	0.22	0.03
Valine	0.24	0.03	0.23	0.03
Isoleucine	0.24	0.03	0.22	0.03
Leucine	0.23	0.03	0.22	0.03
Lysine	0.34	0.04	0.33	0.04
Cysteine	0.21	0.03	0.19	0.02
Methionine	0.11	0.01	0.11	0.01
Hydroxyproline	<0.15		<0.15	
Phenylalanine	<0.45		<0.45	
Tryptophan	<0.15		<0.15	

росодержащей аминокислоты – цистеина. В молоке, подвергнутом радиационной обработке, увеличилось содержание незаменимых аминокислот, в том числе, наблюдали повышение количества гистидина, являющегося незаменимой аминокислотой для детей. Содержание аргинина в среднем не изменилось. Заметная тенденция к увеличению содержания свободных аминокислот в молоке, обработанном ускоренными электронами в дозе около 10 кГр, связана с частичным распадом первичной структуры нативных полипептидов и крупных белковых молекул молока. В целом увеличение содержания большинства аминокислот, в

том числе незаменимых, повышает биодоступность и придает молоку диетические качества, так как усвоение аминокислот в желудочно-кишечном тракте происходит значительно быстрее и легче, чем усвоение высокомолекулярных пептидов и крупных белковых молекул. Кроме того, аллергенность молока снижается вследствие разрушения некоторых аллергенов до свободных аминокислот и олигопептидов, не обладающих антигенными свойствами.

Исследование бактериальной обсемененности молока показало, что значение КМАФАнМ в пробах, облученных импульсным электронным пучком



Рис. 1. Содержание аминокислот в молоке после радиационной обработки

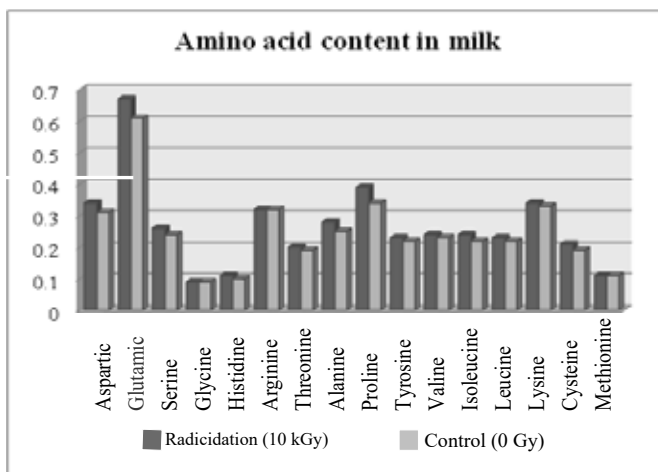


Fig. 1. Amino acid content in milk after radiation treatment



Рис. 2. Содержание незаменимых аминокислот в молоке после радиации

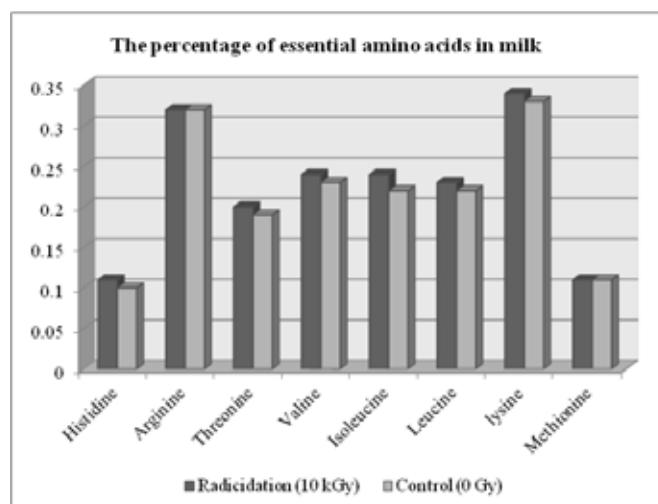


Fig. 2. The content of essential amino acids in the milk after radurization

в дозе 9,7–10,2 кГр, не превышало $1 \cdot 10^2$ КОЕ/г, при нормативном значении для молока высшего сорта КОЕ не более $1 \cdot 10^5$ в грамме. Таким образом, радиация молока импульсом ускоренных электронов в дозе 10 кГр и более обеспечивает микробную обсемененность молока на уровне, соответствующем молоку высшего качества.

При проведении сычужно-бродильной пробы выявлено значительное улучшение сыропригодности молока по сравнению с контрольными образцами. Так, все контрольные образцы демонстрировали 3-й класс по сычужно-бродильной пробе, что соответствует непригодному для изготовления сыра молоку. Среди опытных образцов, подвергнутых обработке импульсом ускоренных электронов при поглощенной дозе около 10 кГр, в 67 % случаев выявлен 1-й класс, а в 33 % случаев – 2-й класс сыропригодности по сычужно-бродильной пробе, что является хорошим и удовлетворительным результатом. Улучшение сыропригодности, вероятно, связано с изменением белкового и аминокислотного состава молока.

Заключение. Современные стандарты качества, предъявляемые к сельхозпроизводителям, требуют

поиска и внедрения новых технологий производства и переработки молока и молочной продукции.

В настоящее время все шире применяются новые методы обработки молока, обеспечивающие его микробиологическую безопасность, но максимально щадящие по отношению к термолабильным питательным веществам, витаминам и другим ценным компонентам. Одним из таких методов является радиационная обработка молока импульсом электронов высокой энергии, производимая на специальных ускорителях – установках для радиационной стерилизации.

Одними из критериев пищевой, биологической и диетической ценности молока и молочной продукции являются белковый состав, содержание поли- и олигопептидов, свободных и связанных заменимых и незаменимых аминокислот. Белковый состав молока оказывает также значительное влияние на его сыропригодность. Установлено, что при радиационной обработке молока импульсом ускоренных электронов в дозах, достаточных для элиминации патогенной и условно-патогенной микрофлоры, происходит увеличение содержания отдельных аминокислот



в среднем на 9–13 %. Отмечается заметное улучшение класса сыропригодности обработанного молока от неудовлетворительного до хорошего по сычужно-бродильной пробе. Предполагается, что увеличение количества свободных пептидогенных аминокислот, а также распад некоторых крупных аллергенов

белковых молекул могут положительно влиять на биодоступность и диетическую ценность молока, подвергнутого радиационной стерилизации.

Применение радиационных технологий для обработки молока перспективно, так как позволяет обеспечить микробиологическую безопасность молока, не снижая пищевой ценности продукта.

Литература

1. Аллен Д. У., Кроусон А., Д. Летард Д. А. Сравнение влияния гамма- и лучеоблучения электронов на примеси в контактирующих с пищевыми продуктами полимерах. Документ, представленный на совещании по рассмотрению проекта рабочей группы МАФФ: химические вещества из материалов, контактирующих с пищей. Норвич, 5–6 марта, 1991.
2. Арванитоянис И. С. Облучение продовольственных товаров: методы, приложения, обнаружение, законодательство, безопасность и потребительское мнение. Эльзевир, 2010.
3. Чауки-Офферманс Н. Материалы для упаковки пищевых продуктов и радиационной обработки еды : краткий обзор // Международный радиационный журнал приложений и инструментария. Часть С. Радиационная физика и химия. 1989. № 34. Т. 1005.
4. Варияр П. С., Рао Б. Ю. К., Алур М. Д., Томас П. Влияние гамма-излучения на миграцию добавки в ламинированные мешки эластичного пластика // Журнал полимерных материалов. 2000. № 17. Т. 87.
5. Балакирева Ю. В., Зайцев С. Ю., Каримова Ф. Г., Акулов А. Н., Ахмадуллина Ф. Ю. Влияние режима пастеризации на полипептидный состав молока // Фундаментальные исследования. 2012. № 2. С. 170–173.
6. Воронин Б. А., Донник И. М. Агропродовольственный рынок России – проблемы импортозамещения // Нивы Зауралья. 2014. № 9.
7. ГОСТ Р 52054-2003. Молоко коровье сырое. Технические условия (с Изменением № 1).
8. Донник И. М., Лоретц О. Г. Влияние технологии доения на молочную продуктивность и качество молока коров // Аграрный вестник Урала. 2014. № 12. С. 13–16.
9. Донник И. М., Шкуратова И. А. Особенности адаптации крупного рогатого скота к неблагоприятным экологическим факторам окружающей среды // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2009. № 1.
10. Радиационная стерилизация пищевых продуктов. URL : <http://gamma-stop.ru/index/sterilizacija/0-32>.

References

1. Allen D. W., Crowson A., Leathard D. A. A comparison of the effects of gamma- and electron beam-irradiation on additives present in food contact polymers. Paper presented at the Project Review Meeting of the MAFF Working Party: Chemical Contaminants from Food Contact Materials. Norwich, March 5–6, 1991.
2. Arvanitoyannis I. S. Irradiation of food commodities: techniques, applications, detection, legislation, safety and consumer opinion. Elsevier, 2010.
3. Chuaqui-Offermans N. Food packaging materials and radiation processing of food : a brief review // Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part C, Radiat. Phys. Chem. 1989. № 34. Vol. 1005.
4. Variyar P. S., Rao B. Y. K., Alur M. D., Thomas P. Effect of gamma irradiation on migration of additive in laminated flexible plastic pouches // J. Polym. Mater. 2000. № 17. Vol. 87.
5. Balakireva Yu. V., Zaitsev S. Yu., Karimova F. G., Akulov A. N., Akhmadullina F. Yu. Effect of pasteurization on the protein composition of milk // Fundamental research. 2012. № 2. P. 170–173.
6. Voronin B. A., Donnik I. M. Agro-food market of Russia – problems of import substitution // Niva of the Urals. 2014. № 9.
7. GOST R 52054-2003. Raw cow's milk. Specifications (with Change № 1).
8. Donnik I. M., Loretz O. G. Influence of milking technology on milk production and milk quality of cows // Agrarian Bulletin of the Urals. 2014. № 12. P. 13–16.
9. Donnik I. M., Shkuratova I. A. Peculiarities of adaptation of cattle to adverse environmental factors environment // Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2009. № 1.
10. Radiation sterilization of food products. URL : <http://gamma-stop.ru/index/sterilizacija/0-32>.