УДК 579.67

HYGIENIC AND TECHNOLOGY RATIONING OF MILK PSYCHROTROPHIC MICROFLORA

M. Kukhtyn, O. Pokotylo
Ternopil Ivan Pul'uj National Technical University
J. Perkiy, J. Goryuk
Ternopil Experimental Station of the Institute of Veterinary Medicine of NAAS of Ukrain

Key words:
Milk
Psychrotrophic microflora
Standards
Free fatty acid

Article history:
Received 26.01.2015
Received in revised form 12.02.2015
Accepted 01.03.2015

Corresponding author:
M. Kukhtyn
E-mail:
kuchtyn@ya.ru

ABSTRACT

It has been stated that the quantity of psyhrotrofyc microorganisms in whole milk is the smallest in summer, and it gradually grows in spring and autumn and sharply increases in winter in 1.4—3.0 times. The dynamics of free fatty acids accumulation in milk with the initial number of psyhrotrofyc microorganisms of $8.0 \cdot 10^3$ CFU/cm^3 was insignificant, and this number increased in 1.4 times within 48 hours. At the end of this period, the psychrotrophic content was about $5.0 \cdot 10^4$ CFU/cm^3. When the initial amount of psyhrotrofic organisms in milk exceeded 10^5 CFU/cm^3, lipolytic process was intensified, and it depended on the dynamics of psyhrotrofic microflora reproduction. The content of psyhrotrofic microorganisms up to $5.0 \cdot 10^3$ CFU/cm^3 in fresh whole milk can be considered a hygienic standard of quality and safety which characterizes the suitability of milk cooling and storage. Psychrotrophic content in unprocessed cooled milk which is up to $7.5 \cdot 10^4$ CFU/cm^3 is an indicator of its technological quality, indicating a moderate level of lipolysis under which all kinds of dairy products can be produced.

ГІГІЄНІЧНЕ І ТЕХНОЛОГІЧНЕ НОРМУВАННЯ ПСИХРОТРОФНОЇ МІКРОФЛОРИ МОЛОКА

М.Д. Кухтин, О.С. Покотило
Тернопільський національний технічний університет ім. І.Пулюя
Ю.Б. Перкій, Ю.В. Горюк
Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН України

У статті встановлено, що в молоці незбираному кількість психротрофних мікроорганізмів найменша літом, весною та восени їх вміст поступово зростає, а взимку збільшується в 1,3—3,0 рази. У молоці з початковою кількістю психротрофної мікрофлори $8,0 \cdot 10^3$ КУО/см^3 динаміка накопичення вільних жирних кислот незначна, збільшення їх протягом 48 год становило 1,4 раза при кінцевому вмісті психротрофів близько $5,0 \cdot 10^4$ КУО/см^3. Із збільшенням початкової кількості психротрофів у молоці до $1 \cdot 10^5$ і більше КУО/см^3 ліполітичний процес інтенсифікувався та залежав від динаміки розмноження психротрофної мікрофлори. Вміст психротрофних мікроорганізмів у молоці незбираному сві-

жонадоєному до 5,0·10^3 КУО/см^3 можна вважати гігієнічним нормативом якості та безпеки, який характеризує придатність молока до охолодження і зберігання. Вміст психротрофів у молоці охолодженому перед переробкою до 7,5·10^4 КУО/см^3 є показником його технологічної якості, що вказує на помірний рівень ліполізу, за якого молоко придатне для перероблення на всі види молочних продуктів.

***Ключові слова**: молоко, психротрофна мікрофлора, нормативи, вільні жирні кислоти.*

Постановка проблеми. Молоко та молочні продукти віднесені ВООЗ до першої категорії ризиків, які спричиняють харчові отруєння мікробної етіології, а процес їх виробництва вимагає постійного контролю. Загальне бактеріальне обсіменіння молока незбираного оцінюють за кількостю мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАнМ). У недостатньо охолодженому молоці (вище 10 ºС) активно розмножуються мікроби саме цієї групи, що продукують гліколітичні ензими, під дією яких відбувається гідроліз лактози з утворенням молочної кислоти [1]. В охолодженому молоці переважають психротрофні мікроорганізми з ліполітичною та протеолітичною активністю [2, 3].

Технологічне значення психротрофних мікроорганізмів молока характеризується тим, що вони спричиняють вади молока та виготовленої молочної продукції. На даний час з'ясовано, що домінантна психротрофна мікрофлора значно обмежує строки зберігання молока й молочної продукції в охолодженому стані [4]. Проте органолептичні зміни в молоці, які виникають внаслідок життєдіяльності психротрофної мікрофлори, можливі лише тоді, коли їх кількість збільшується до певної межі [5]. Крім здатності розмножуватися в охолодженому стані, психротрофи мають можливість продукувати високостабільні позаклітинні ферменти: ліпази, протеази і лецитинази. На відміну від нативних молочних ліпаз, мікробні ліпази досить терморезистентні і витримують традиційну й ультрависокотемпературну пастеризацію [6]. Якщо пастеризація (72 ºС протягом 15 с) зазвичай спричиняє загибель мікробних клітини психротрофів, то їх ферменти не інактивуються, а якщо й інгібуються, то через певний проміжок часу проходить їх реактивація у виготовленому продукті [7]. Так, мікробні ліпази гідролізують молочний жир (тригліцерол), що спричиняє збільшення вільних жирних кислот і виникнення прогірклого або гіркого смаку із неприємним мильним запахом. Лецитинази пошкоджують мембрани жирових кульок, що збільшує сприйнятливість молочного жиру до дії ліпаз [4]. Протеоліз казеїну психротрофними протеазами спричиняє виникнення гіркого смаку, швидке звертання молока та зниження його стійкості при зберіганні [8].

У деяких країнах, крім контролювання мезофільної групи мікроорганізмів, додатково для підвищення конкурентоспроможності та якості молока введено свої нормативи, які регламентують уміст психротрофної мікрофлори [9].

Мета дослідження. Науково обґрунтувати і визначити гігієнічний і технологічний норматив психротрофної мікрофлори у молоці незбираному.

Матеріали і методи досліджень. Мікробіологічні дослідження молока виконували посівом у чашки Петрі згідно з ДСТУ ІДФ 100В: 2003 «Молоко і

молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підрахування колоній за температури 30 ºС» [10]; ДСТУ IDF 101 A:2003 Молоко. Визначення кількості психротрофних мікроорганізмів. Метод підрахування колоній за температури 6,5 ºС [11]. Уміст вільних жирних кислот у молоці визначали методом екстрагування їх із молочного жиру органічними розчинниками і титрування лугом [4]. Органолептичні вади в молоці визначали згідно з довідником [12].

Результати і обговорення. Визначення нормативу психротрофної мікрофлори в молоці сирому здійснювалося на основі результатів мікробіологічного дослідження, які одержували у виробничих умовах з обов'язковим дотриманням санітарних заходів на всьому етапі виробництва і передачі молока переробному підприємству. Варто зауважити, що мікробіологічний норматив вмісту психротрофних мікроорганізмів у молоці сирому — це орієнтир для контролю за дотриманням процесу одержання, зберігання молока, що є прогностичним показником можливих органолептичних змін у молочних продуктах. Разом з цим, значне збільшення вмісту психротрофних бактерій порівняно з визначеним нормативом дає підставу вважати, що в даному випадку були створені умови для розмноження більш небезпечних і технічно шкідливих мікроорганізмів.

У табл. 1 наведено дослідження обсіменіння молока свіжонадоєного екстраґатунку психротрофними бактеріями протягом року.

Таблиця 1. **Вміст психротрофних мікроорганізмів у молоці свіжонадоєному екстраґатунку,** тис. КУО/см^3, $M\pm m$, n=80

Пори року	Уміст мезофільних (МАФАнМ) бактерій у молоці, КУО/см^3	Уміст психротрофних бактерій у молоці, КУО/см^3
Весна	$(6,1\pm0,6)\cdot10^4$	$(2,4\pm0,1)\cdot10^4$
Літо	$(9,5\pm1,1)\cdot10^4$	$(1,3\pm0,1)\cdot10^4$
Осінь	$(4,8\pm0,4)\cdot10^4$	$(2,8\pm0,1)\cdot10^4$
Зима	$(3,6\pm0,4)\cdot10^4$	$(4,0\pm0,4)\cdot10^4$

З даних табл. 1 видно, що кількість психротрофних мікроорганізмів найменша літом, весною та восени її вміст поступово зростав, а взимку збільшувався в 1,3—3,0 рази. Таким чином, дослідження з визначення нормативу психротрофної мікрофлори в молоці незбираному необхідно проводити в зимовий період для того, щоб врахувати максимально можливий їх вміст.

Зазвичай від моменту одержання молока до перероблення проходить час від 2 до 4 діб. Протягом цього часу молоко зберігають в охолодженому стані за температури 4—6 ºС, тому необхідно враховувати динаміку розмноження психротрофної мікрофлори та її ліполітичну активність. У табл. 2 наведено результати комплексних досліджень динаміки розмноження психротрофних мікроорганізмів і процес накопичення вільних жирних кислот у молоці під час його зберігання. Проби молока поділили на чотири варіанти залежно від різного початкового вмісту мікроорганізмів у свіжонадоєному молоці. Перший варіант: свіжонадоєне молоко з мікробним числом психротрофних бактерій у межах $8,0\cdot10^3$ КУО/см^3 (екстраґатунок); другий варіант — $7,5\cdot10^4$ КУО/см^3 (вищий); третій варіант — $3,7\cdot10^5$ КУО/см^3 (перший) і четвертий варіант — $1,1\cdot10^6$ КУО/см^3 (другий). Контролем слугував початковий вміст мікроорганізмів і вільних жирних кислот у свіжонадоєному молоці.

Таблиця 2. **Розмноження мікрофлори молока незбираного при зберіганні в охолодженому стані за температури 4—6 °С,** *M*±*m*, *n*=64

Зберігання молока, год		Кількість мікроорганізмів у молоці, КУО/см^3		Вміст вільних жирних кислот, мг КОН /г молочного жиру
		мезофільних	психротрофних	
Варіант 1	**Контроль**	**(3,5±0,7)·10^4**	**(8,0±1,1)**·10^3	**1,30±0,11**
	24	(5,9±0,7)·10^4	(1,9±0,3)·10^4	1,57±0,12
	48	(1,8±0,2)·10^5	(4,4±0,8)·10^4*	1,82±0,11
	72	(2,6±0,3)·10^5	(1,2±0,1)·10^5***	2,14±0,13*
Варіант 2	**Контроль**	**(1,3±0,1)·10^5**	**(7,4±0,1)**·10^4	**1,30±0,11**
	24	(2,7±0,5)·10^5	(1,8±0,3)·10^5*	1,66±0,11
	48	(7,9±1,7)·10^5	(5,2±0,1)·10^5**	2,27±0,15*
	72	(1,1±0,2)·10^6	(1,1±0,2)·10^6***	3,21±0,22**
Варіант 3	**Контроль**	**(3,4±0,6)·10^5**	**(3,6±0,7)**·10^5	**1,30±0,11**
	24	(7,2±0,1)·10^5	(1,3±0,2)·10^6**	2,27±0,11*
	48	(2,1±0,3)·10^6	(3,6±0,7)·10^6***	3,43±0,24***
	72	(3,4±0,6)·10^6	(7,2±1,2)·10^6***	3,90±0,31***
Варіант 4	**Контроль**	**(9,6±1,9)·10^5**	**(1,1±0,2)·10^6**	**1,30±0,11**
	24	(2,1±0,3)·10^6	(2,5±0,3)·10^6**	2,46±0,13*
	48	(6,9±0,7)·10^6	(1,2±0,09)·10^7***	3,64±0,21***
	72	(1,2±0,09)·10^7	(2,4±0,2)·10^7***	4,42±0,20***

Примітка: * — $P\leq0,05$; ** — $P\leq0,01$; *** — $P\leq0,001$ — щодо контролю

Як видно з табл. 2, в молоці охолодженому з різним початковим вмістом мікроорганізмів темпи розмноження мікрофлори протягом часу зберігання відрізнялися між собою. Існує пряма залежність між початковим вмістом мікрофлори та динамікою її розмноження, тобто чим більше мікробне обсіменіння молока, тим швидші темпи розмноження мікроорганізмів.

У першому варіанті з незначним умістом мікроорганізмів темпи розмноження як мезофільних, так і психротрофних бактерій практично в 2,0 рази повільніші порівняно з четвертим варіантом, при цьому розмноження мікрофлори значно інтенсифікувалося тільки після 24 год зберігання. У третьому та четвертому варіантах, які містили від $3\cdot10^5$ до $1\cdot10^6$ КУО/см^3 мікроорганізмів, протягом цього часу їх кількість збільшувався в 2—4 рази. В усіх варіантах швидшими темпами розмножувалася психротрофна мікрофлора, її вміст у третьому та четвертому варіантах через три доби був у 2,0 рази більший порівняно з мезофільною мікрофлорою.

Вміст вільних жирних кислот у молоці поступово наростав протягом часу зберігання. Але їх кількість суттєво починала збільшуватися після 24 год витримки молока, що вказує на інтенсифікацію мікробіологічного процесу. У молоці з початковою кількістю психротрофних мікроорганізмів $(8,0\pm1,1)\cdot10^3$ КУО/см^3 динаміка накопичення вільних жирних кислот незначна, збільшення їх протягом 48 год становило 1,4 раза при зростанні вмісту психротрофних мікроорганізмів $5\cdot10^4$ КУО/см^3. Із збільшенням початкової кількості психротрофів у молоці до $(7,4\pm1,6)\cdot10^4$ КУО/см^3 відмічали інтенсифікацію мікробіологічного і ліполітичного процесу, при цьому кількість вільних жирних кислот протягом 48 год зростала в 1,8 раза і становила 2,27±0,15 мг КОН/г молочного жиру. У третьому та четвертому варіантах відзначали інтенсивне збільшення вмісту віль-

них жирних кислот уже протягом першої доби, а під час наступних двох діб ліполітичний процес посилювався і кількість вільних жирних кислот збільшувалася в 3,0—3,4 раза ($P \leq 0{,}01$) та становила більше 3,5 мг КОН/г молочного жиру.

Отже, при зберіганні молока незбираного в охолодженому стані в мікробіологічному процесі домінуюча роль належить психротрофній мікрофлорі. Зміна якості такого молока безпосередньо пов'язана з ліполізом молочного жиру та накопиченням вільних жирних кислот унаслідок ліполітичної активності психротрофних мікроорганізмів.

На рисунку наведено результати досліджень залежності вад смаку та запаху від умісту вільних жирних кислот у молоці незбираному охолодженому. Класифікація вад смаку та запаху здійснювалася за п'ятибальною шкалою: 5 і 4 бали — вади смаку та запаху відсутні; 3 бали — слабкий ліполізований смак і запах наявний у 25 % випадків досліджених проб; 2 бали — ліполізований смак і запах завжди наявний (слабке прогіркання); 1 бал — сильний ліполізований смак і запах (гіркий).

Рис. Взаємозв'язок між умістом вільних жирних кислот у молоці незбираному охолодженому і вадами смаку й запаху

Як видно з даних, наведених на рисунку, партії молока, в яких вміст вільних жирних кислот становив 2,00 мг КОН/г молочного жиру, мали найвищу кількість балів — 5 або 4. Тобто у такому молоці смак і запах відповідав природному свіжонадоєному молоку (смак приємний, злегка солодко-солоний). Молоко, яке оцінювали у три бали, в деяких випадках мало слабкий кормовий і мильний запах, що вказувало на початок ліполізу молочного жиру. Партії молока, у яких вміст вільних жирних кислот становив 3 і більше мг КОН/г молочного жиру, характеризувалися як ліполізовані та були оцінені в 2 бали і нижче. Таке молоко мало прогірклий смак і легкий фруктовий запах.

Отже, результати досліджень вказують на те, що молоко з вмістом вільних жирних кислот більше 3 мг КОН/г молочного жиру непридатне для виробництва молочних продуктів через наявність вад смаку й запаху.

Також дослідження показують, що розмноження психротрофних мікроорганізмів в охолодженому молоці в 2,0—2,5 раза швидше відносно мезофільних бактерій, тому при нормуванні психротрофної мікрофлори цю динаміку необхідно враховувати. Тобто згідно з попередніми дослідженнями при початковому вмісті психротрофів у молоці свіжонадоєному близько $5 \cdot 10^3$ КУО/см^3 їх кількість протягом доби зберігання за температури 8 ºС максимально може збільшитися до $5 \cdot 10^4$ КУО/см^3, а за температури 4—6 ºС — до $1{,}5 \cdot 10^4$ КУО/см^3.

Разом з тим, враховуючи середнє збільшення кількості мікроорганізмів в 1,5 раза, під час доставляння молока на переробне підприємство максимально можливий вміст психротрофних мікроорганізмів може становити за температури 8 ºС — $7{,}5 \cdot 10^4$ КУО/см^3, а за температури зберігання 4—6 ºС — $2{,}5 \cdot 10^4$ КУО/см^3. Ця кількість мікроорганізмів замала, щоб вплинути своїми ферментними системами на основні компоненти молока.

У той же час при початковому вмісті психротрофних бактерій у молоці свіжонадоєному в межах $2 \cdot 10^4$ КУО/см^3 і за сприятливих для розмноження умов зберігання до переробки (8 ºС) їх кількість може сягнути протягом 48 год більше $2 \cdot 10^5$ КУО/см^3. За цих умов вироблені в процесі розмноження мікробні екзоферменти сприяють активним змінам (ліполіз, протеоліз) нативного стану основних складових молока і призводять до зниження його якості. За умови вмісту психротрофів у свіжонадоєному молоці в межах 4—$5 \cdot 10^3$ КУО/см^3, охолодженні до 4—6 ºС і зберіганні до перероблення 72 год кількість синтезованих ліполітичних ензимів протягом цього часу недостатня, щоб спричинити ліполізовані зміни молока та молочних продуктів.

Висновки

Вміст психротрофних мікроорганізмів у молоці свіжонадоєному до $5 \cdot 10^3$ КУО/см^3 можна вважати гігієнічним нормативом якості та безпеки, який характеризує придатність молока до охолодження й зберігання. Вміст психротрофів у молоці охолодженому перед переробкою до $7{,}5 \cdot 10^4$ КУО/см^3 є показником його технологічної якості, що вказує на помірний рівень ліполізу, за якого молоко придатне для перероблення на всі види молочних продуктів.

Література

1. *Мікробіологія* молока і молочних продуктів з основами ветеринарно-санітарної експертизи: навч. посіб./ [Бергілевич О.М., Касянчук В.В., Салата В.З. та ін.; за ред. В.В. Касянчук]. — Суми: Університетська книга, 2010. — 320 с.

2. *Cempirkova R.* Counts of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk samples from the aspect of technological quality / R. Cempirkova, M. Mikulova, J. Travnicek // Journal of Agrobiology. — 2009. — # 26. — P. 113—121.

3. *Кухтин М.Д.* Вплив психротрофної мікрофлори молока незбираного на вміст вільних жирних кислот / М.Д. Кухтин // Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. Ветеринарні науки. — Харків.: РВВ ХДЗВА., 2009. — Вип.(42). — Ч.2, Т.3. — С. 180—185.

4. *Шидловская В.П.* Справочник технолога молочного производства. Ферменти молока. — Т.10. — Санкт-Петербург: ГИОРД, 2006. — 296 с.

5. *Chen L.* Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders / L. Chen, R. M. Daniel, T. Coolbear // International Dairy Journal. — 2003. — # 13. — С. 255—275.

6. *Braun P.* Investigations into the activity of enzymes produced by spoilage-causing bacteria: A possible basis for improved shelf-life estimation / P. Braun, K. Fehlhaber, C. Klug, K. Kopp // Food microbiology. — 1999. — V. 16, Issue 5. — P. 531—540.

7. *Koka R.* Influence of growth conditions on heat-stable phospholipase activity in *Pseudomonas* / R. Koka, B. C. Weimer // Journal of Dairy Research. — 2001. — # 68. — P. 109—116.

8. *Wilkinson M.G.* Mechanism of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening / M.G. Wilkinson, K.N. Kilcawley // Inter. Dairy J. — 2005. — # 15. — P. 817—830.

9. *Cempirkova R.* Counts of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk samples from the aspect of technological quality / R. Cempirkova, M. Mikulova, J. Travnicek // Journal of Agrobiology. — 2009. — # 26. — P. 113—121.

10. *Молоко*. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підрахування колоній за температури 30 ºС: ДСТУ IDF 100B:2003. — [Чинний від 2005-01-01]. — К.: Держспоживстандарт України, 2005. — IV. — 5 с.

11. *Молоко*. Визначення кількості психротрофних мікроорганізмів. Метод підрахування колоній за температури 6,5 ºС: ДСТУ IDF 101 A: 2003. — [Чинний від 2005-01-01]. — К.: Держспоживстандарт України, 2005. — IV. — 6 с.

12. *Шидловская В.П.* Органолептические свойства молока и молочных продуктов / В.П. Шидловская. — М.: Колос, 2004. — 360 с.

ГИГИЕНИЧЕСКОЕ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ ПСИХРОТРОФНОЙ МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА

Н.Д. Кухтын, О.С. Покотило
Тернопольский национальный технический университет им. И. Пулюя
Ю.Б. Перкий, Ю.В. Горюк
Тернопольская опытная станция Института ветеринарной медицины НААН Украины

В статье установлено, что в молоке цельном количество психротрофных микроорганизмов самое низкое летом, весной и осенью их содержание постепенно увеличивается, а зимой возрастает в 1,4—3,0 раза. В молоке с начальным количеством психротрофной микрофлоры $8{,}0\cdot10^3$ КОЕ/см^3 динамика накопления свободных жирных кислот незначительная, увеличения их в течение 48 час составляло 1,4 раза при конечном содержании психротрофов около $5{,}0\cdot10^4$ КОЕ/см^3. С увеличением исходного количества психротрофов в молоке до $1\cdot10^5$ и более КОЕ/см^3 липолитический процесс усиливался и зависел от динамики размножения психротрофной микрофлоры. Количество психротрофных микроорганизмов в молоке свеженадоенном до $5{,}0\cdot10^3$ КОЕ/см^3 является гигиеническим нормативом качества и безопасности, который характеризует пригодность молока к охлаждению и хранению. Количество психротрофов до $7{,}5\cdot10^4$ КОЕ/см^3 в молоке охлажденном перед переработкой является показателем его технологического качества, которое указывает на умеренный уровень липолиза, при котором молоко пригодно для изготовления всех видов молочных продуктов.

***Ключевые слова**: молоко, психротрофная микрофлора, нормативы, свободные жирные кислоты.*