

УДК 664.857.3

UDC 664.857.3

**О ВЛИЯНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ, pH И
ВРЕМЕНИ ИХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ДРОЖЖИ
– ПОКАЗАТЕЛИ ПОРЧИ ПЕКТИНОВЫХ
КОНЦЕНТРАТОВ, СОКОВ И НАПИТКОВ**

**ABOUT IMPACT OF TEMPERATURE, pH AND
TIME ON YEAST – LEVEL OF MERIT OF
PECTIN CONCENTRATES, JUICES AND
DRINKS**

Сединина Наталья Викторовна
научный сотрудник

Sedinina Natalya Viktorovna
research worker

Донченко Людмила Владимировна
д.т.н., профессор
*НИИ Биотехнологии и сертификации,
Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Donchenko LiudmilaVladimirovna
Dr.Sci.Tech., professor
*SRI Biotechnology and food manufacturing
certification of Kuban State Agrarian University,
Krasnodar, Russia*

Определены температура и время процесса
концентрирования, позволяющие получить
яблочный пектиновый концентрат, безопасный по
микробиологическим показателям. Проведена
оценка чувствительности дрожжевых клеток к
яблочному пектину

The temperature and the time of process of concentra-
tion were tested to receive a microbial safety apple
pectin concentrate. The relation of yeast to apple pec-
tin concentrate was studied

Ключевые слова: КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ,
ТЕМПЕРАТУРА, ВРЕМЯ, ПЕКТИНОВЫЙ
КОНЦЕНТРАТ, ДРОЖЖЕВАЯ МИКРОФЛОРА,
НАПИТОК

Keywords: CONCENTRATION, TEMPERATURE,
TIME, PECTIN CONCENTRATE, YEAST, JUICE

Безалкогольные напитки, соки, концентраты по своим физико-химическим свойствам являются хорошей питательной средой для развития дрожжей, плесневых грибов, молочнокислых и уксуснокислых бактерий, т.к. содержат в своем составе сахар, растительные экстракты и имеют невысокий уровень pH. Кроме того, в данных продуктах присутствуют минеральные вещества и витамины, которые являются компонентами, необходимыми для роста и развития микроорганизмов [1, 3].

Одной из актуальных задач при производстве напитков, соков, концентратов остается необходимость обеспечения их микробиологической стабильности при хранении. Так, при несоблюдении санитарно-гигиенических правил, недостаточной санитарной обработке оборудования, исходного сырья, поступающего на переработку, нарушении технологических параметров микроорганизмы могут сохранять свою жизнеспособность в промежуточных полуфабрикатах на разных стадиях технологического процесса и переходят в готовый продукт.

Для обеспечения микробиологической стабильности при производстве соков и сокосодержащих напитков используют стерилизацию и пастеризацию.

Безалкогольные напитки со сроком стойкости более 30 суток на подсластителях и /или сахарах, в т. ч. энергетические, в основном, производят с использованием регуляторов кислотности и консервантов. Наиболее часто в качестве консервантов используются бензоат натрия, бензойная кислота и сорбат калия, а также используются регуляторы кислотности (Е330 – лимонная кислота, Е331 – цитраты натрия).

Применение с этой целью диоксида углерода частично подавляет развитие микроорганизмов, плесневых грибов и уксуснокислых бактерий, особенно нуждающихся в кислороде [1, 2]. Однако большая часть случаев нарушения микробиологической стабильности напитков связана с развитием дрожжей. В 90 из 100 случаев микробиологическая порча безалкогольных напитков вызывается дрожжами [2, 4]. Например, компанией по производству напитков «DOHLER» проблема развития микроорганизмов в напитках, особенно дрожжей и плесеней, выделена в одну из основных [7].

На базе НИИ Биотехнологии и сертификации пищевой продукции ФГБОУ ВПО «КубГАУ» нами проведены исследования ряда напитков, соков, квасов, приобретенных в розничной торговой сети российского потребительского рынка на соответствие требованиям показателей микробиологической безопасности СанПиН 2.3.2.1078-01 и ФЗ № 178 «Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей». Было установлено, что из 50 образцов 11 содержали дрожжевые клетки в количестве, не превышающем допустимые нормативы. Эти напитки были произведены с использованием методов пастеризации или введения консервантов (бензоата натрия, бензойной кислоты), а также насыщены диоксидом углерода. В 3-х образцах напитков было выявлено превышение норматива по количеству дрожжей. Следует отметить, что в их состав входили растительные

экстракты и настои, что повышает риск микробиологической нестабильности напитков.

Проблема развития дрожжей особенно актуальна при производстве пектинсодержащих напитков. Дрожжи встречаются на поверхности плодов, ягод, в почве, воздухе, обсеменяют сырье и полуфабрикаты в процессе производства. Дрожжи, попадая на поврежденные или сахаросодержащие участки плодов и ягод, начинают размножаться. Они обладают небольшой потребностью в кислороде, высокой осмофильностью. Кроме того, дрожжи способны синтезировать вещества, необходимые для их роста и обмена веществ, поэтому их требования к питательному субстрату незначительны. Известно, что дрожжи устойчивы к органическим кислотам, сахарам и CO_2 . Существуют виды дрожжей, которые способны существовать даже в сильно сульфитированных соках [1, 2].

Установлено, что на процесс дальнейшего размножения микроорганизмов в готовых соках, напитках, квасах влияют [1]:

- начальная численность микроорганизмов после розлива и упаковки,
- виды микроорганизмов,
- величина рН продукта,
- осмотические свойства, определяемые содержанием влаги,
- значение активной кислотности,
- технологические приемы производства,
- условия хранения готового продукта

Таким образом, необходимость изучения влияния температуры и продолжительности ее воздействия на дрожжевую микрофлору напитков, содержащих растительные экстракты и концентраты, была обусловлена тем, что при исследовании образцов данной продукции, содержание колониеобразующих единиц (КОЕ) дрожжевых клеток в отдельных случаях превышало нормативы.

Целью наших исследований явилось изучение чувствительности (отношения) дрожжевых клеток к пектину и оптимизация технологических параметров процесса концентрирования пектинового экстракта

Основной задачей исследования является обеспечение микробиологической стабильности без использования химических консервантов при производстве пектиновых концентратов, а в дальнейшем и напитков на их основе.

Объектом изучения нами выбрана культура дрожжей, выделенная из пектинового концентрата, вырабатываемого на действующем производстве. Культура была чистая, т. е. полученная из одной клетки, путем ее многократного пересева в чашки Петри на среду Сабуро (рис. 1). Чистота культуры подтверждалась при ее микроскопии. Во всех полях зрения в мазках присутствовали только дрожжевые клетки.



Рисунок 1. Культура дрожжей в среде Сабуро, используемая в исследовании

Известно, что дрожжевые клетки в зависимости от родовой и видовой принадлежности способны развиваться в широком интервале рН. Минимальная величина рН, при которой возможно развитие дрожжей, составляет ниже 1,5; максимальная – 8,0 [3]. При этом ферментативный комплекс дрожжей обладает пектолитической активностью [2, 4].

Отдельные виды дрожжей способны сохранять свою жизнеспособность в минимальном интервале температур 0,5–5°C. Максимальная температура их выживания – 40–50°C [2].

Для оценки влияния времени и температуры процесса концентрирования на дрожжевую микрофлору в яблочном пектиновом экстракте, а в дальнейшем – концентрате, использовали метод выпаривания. Для исключения дополнительной контаминации образцов в стерильных лабораторных условиях чистую культуру дрожжей вносили в яблочный пектиновый экстракт. В качестве контроля применяли инокулированную дрожжевой культурой дистиллированную воду, которую подвергли термической обработке при таких же параметрах, как и пектиновый экстракт из яблочных выжимок. Внесение культуры в экстракт проводили после процесса фильтрования, сразу перед процессом концентрирования при различных температурных и временных параметрах, представленных в таблице 1. Величина рН изучаемого экстракта составляла 3,5.

Таблица 1 – Зависимость роста дрожжевых клеток от температуры и времени термообработки в дистиллированной воде и пектиновом концентрате

Параметры процесса концентрирования (температурной обработки)	Количество дрожжевых клеток в дистиллированной воде рН 6,8	Количество дрожжевых клеток в пектиновом концентрате рН 3,5
60 °С 15 мин	25 КОЕ/мл	>1х10 ⁶ КОЕ/мл
60 °С 20 мин	19 КОЕ/мл	>1х10 ⁶ КОЕ/мл
60 °С 25 мин	0 КОЕ/мл	>1х10 ⁶ КОЕ/мл
60 °С 30 мин	0 КОЕ/мл	10 КОЕ/мл
65 °С 15 мин	0 КОЕ/мл	16 КОЕ/мл
65 °С 20 мин	0 КОЕ/мл	11 КОЕ/мл
65 °С 25 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл
65 °С 30 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл
70 °С 15 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл
75 °С 15 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл
80 °С 15 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл
85 °С 15 мин	0 КОЕ/мл	0 КОЕ/мл

В исследовании использовали суточную культуру дрожжей. Подготовку проводили в соответствии с действующими МУК 4.2.026-95 и МУ № 3049-84 [5, 6]. Посевная нагрузка составляла 1 млн чистой культуры дрожжевых клеток в 1 мл дистиллированной воды и экстракта. Затем инокулированные образцы подвергали температурной обработке от 60 °С до 85 °С (с шагом 5°С), изменяя продолжительность обработки от 15 до 30 мин. После этого проводили глубинный посев в питательную среду Сабуро, регламентированную нормативными документами. Количество вносимых в среду инокулированных пектинового концентрата и дистиллированной воды, прошедших термообработку, составляло 1 мл. Количество среды Сабуро на одну чашку Петри – 12,5 мл. В дальнейшем наблюдали за скоростью роста и количеством колоний дрожжей. Для этого чашки Петри помещали в термостат с температурой 20–22 °С на 5 суток. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Следует отметить, что начало роста дрожжевых клеток в пектиновом концентрате, подвергнутом термической обработке при 60 °С в течение 15,

20, 25 мин, наблюдалось через 18 часов инкубирования. При получасовой обработке при температуре 60 °С начало роста было отмечено только на вторые сутки. Аналогичные результаты получены при температурной обработке 65°С в течение 15 мин.

Оценку чувствительности дрожжевых клеток к рН пектинового раствора проводили в диапазоне рН 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5. Выбор указанных нами пределов обусловлен значением рН готовых соков и напитков. Исследование проводили луночным методом с использованием процесса диффузии пектиновых растворов в питательную среду Сабуро, инокулированную чистой культурой дрожжей, при нагрузке тест-культуры – 1 млн клеток в 1 мл вносимой в среду взвеси микроорганизмов. Перед посевом микробную взвесь тест-микроорганизма дрожжей предварительно подвергали термической обработке при разных температурах в течение различного времени.

Для приготовления модельных пектиновых растворов применяли порошок яблочного пектина, по микробиологическим показателям соответствующий требованиям СанПиН 2.3.2.1078-01 (индекс 1.9.6.1). Концентрацию пектиновых веществ в стерильной дистиллированной воде поддерживали равной 0,5 %; 2,5 и 5 % . Уровень рН готовых растворов пектина составлял 5,5 5,0 и 4,5 соответственно. Для достижения рН 3,0; 3,5; 4,0 пектиновые растворы подкисляли лимонной кислотой. Изучаемые растворы вносили в лунки, вырезанные в питательной среде. Инкубирование проводили в термостате при температуре 20–22°С в течение 5 суток, наблюдая за зоной задержки роста дрожжевых колоний или, наоборот, за их ростом (табл. 2).

Таблица 2 – Чувствительность дрожжевых клеток к рН растворов яблочного пектина в зависимости от температуры и времени

Параметры термической обработки дрожжевой культуры	рН растворов яблочного пектина, вносимого в лунки					
	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5
60 °С 15 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
60 °С 20 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
60 °С 25 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
60 °С 30 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
65 °С 15 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
65 °С 20 мин	Зоны задержки роста дрожжевых клеток нет					
65 °С 25 мин	Роста дрожжевых клеток нет					
65 °С 30 мин	Роста дрожжевых клеток нет					
70 °С 15 мин	Роста дрожжевых клеток нет					
75 °С 15 мин	Роста дрожжевых клеток нет					
80 °С 15 мин	Роста дрожжевых клеток нет					
85 °С 15 мин	Роста дрожжевых клеток нет					

Результаты проведенных исследований, показали, что и пектиновый экстракт и пектиновый концентрат, а также пектиновые растворы могут являться питательным субстратом для дрожжевых клеток. Это подтверждается отсутствием зоны задержки роста тест-культуры и развитием колоний дрожжей в первые – вторые сутки термостатирования после термической обработки экстракта при 60°С в течение 15, 20, 25 и 30 мин и при 65°С в течение 15 и 20 мин. Рост колоний дрожжей также наблюдался вокруг лунок с внесенным пектиновым концентратом с рН 3,5 и растворами пектина с рН от 3,0 до 5,5 (интервал 0,5). Наиболее интенсивный рост был отмечен вокруг лунок с 5 % раствором пектина уже через 18 часов.

В процессе производства концентрата такая закономерность может привести к нарастанию количества дрожжевых клеток по ходу технологического процесса, т.к. дрожжи размножаются делением клетки и через десять поколений количество жизнеспособных клеток дрожжей может увеличиться в 1000 раз [1, 2]. На рисунке 2 представлен образец пектинового концентрата при развитии в нем 1 млн колоний дрожжевых клеток в 1 мл на среде Сабуро через 18 часов термостатной выдержки. Данные показате-

ли были обнаружены в образцах пектиновых концентратов при параметрах, явившихся недостаточными для угнетения дрожжевой микрофлоры – температуре 60°C и времени концентрирования 15, 20 и 25 мин.

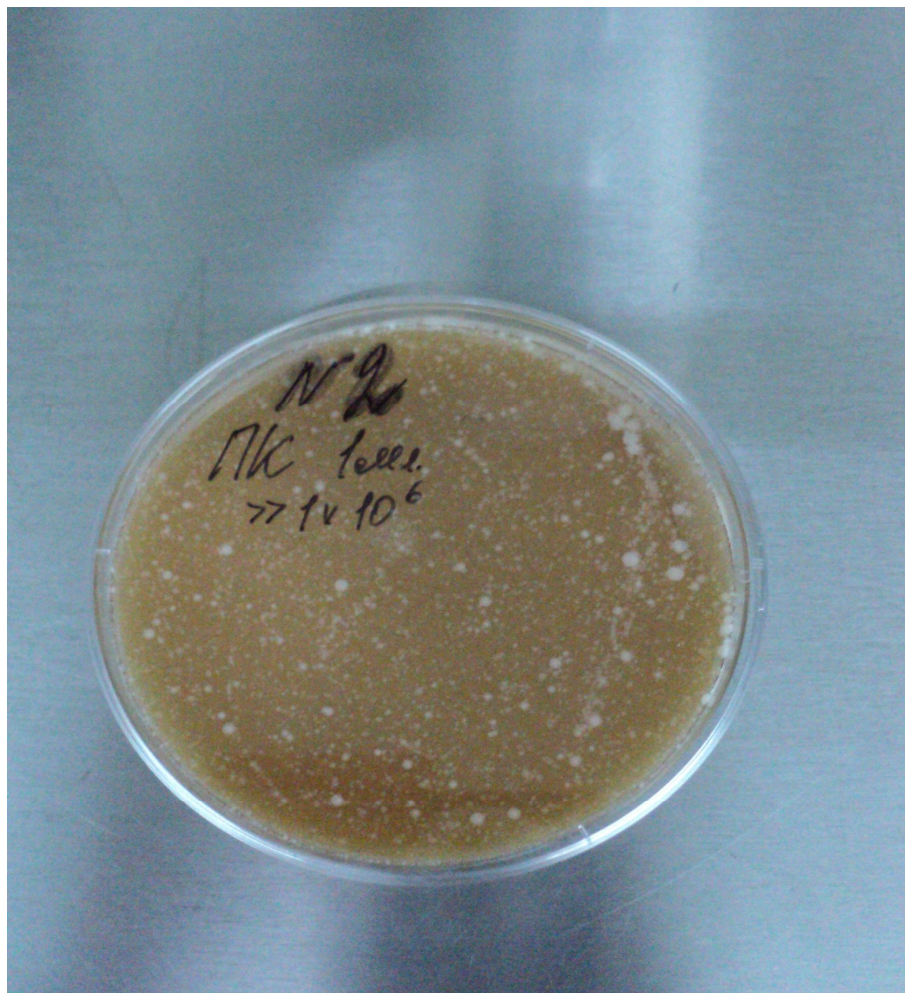


Рисунок 2. Пектиновый концентрат, содержащий более 1×10^6 КОЕ дрожжевых клеток в 1 мл

В процессе хранения это приводит к нарушению микробиологической стабильности, снижению и изменению пищевой ценности продукта, увеличению титруемой кислотности. В готовом концентрате очень быстро появляется видимый, легко приводящийся в движение осадок, происходит очень сильное помутнение.

При увеличении температуры обработки пектинового экстракта до 65°C в течение 25 мин развитие дрожжевых клеток не наблюдалось в течение 5 суток исследования.

Таким образом, экспериментальные данные дают основание предполагать, что в случае использования пектина для обогащения напитков уничтожение дрожжевых клеток будет происходить только за счет увеличения продолжительности и величины температурной обработки. Одновременно результаты подтверждают возможность получения безопасного по микробиологическим показателям пектинового концентрата без использования химических консервантов.

Представленные результаты были применены для оптимизации технологии производства яблочного пектинового концентрата.

Список литературы

1. Слюсаренко Т.П., Решетняк Л.Р. Основы микробиологии, гигиены и санитарии пивоваренного и безалкогольного производства. – М.: ВО Агропромиздат, 1989. – 184 с.
2. Шобингер У. Плодово-ягодные и овощные соки. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 472 с.
3. Экспертиза напитков. Качество и безопасность: Учеб.-справ. Пособие / В.М. Позняковский, В.А. Помозова и др. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2007. – 407 с.
4. Recca J. and Mrak E.M. Yeasts occurring in citrus products // Food Technol. – 1952. – № 6. – С. 450–454.
5. МУК 4.2.026-95 Экспресс-метод определения антибиотиков в пищевых продуктах.
6. МУ №3049-84 Метод определения остаточных количеств антибиотиков в продуктах.
7. [www. doehler.ru](http://www.doehler.ru)