ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ»
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

На правах рукописи

МЕЛЬДЕНБЕРГ ДАРЬЯ НИКОЛАЕВНА

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ БЕЛКОВОГО СОСТАВА МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ И МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

Специальность: 05.18.04 - технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:
кандидат технических наук,
Юрова Е.А.

Москва, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…… 4

ГЛАВА1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……. 9

1.1 Молоко как полидисперсная система…….. 9

1.2 Белковый состав молока……..... 15

1.3 Микро-макроэлементный состав молока……..……. 28

1.4 Основные структурно-механические характеристики молока и молочных продуктов…….. 35

1.5 Требования к молоку сырому……. 40

1.6 Методы исследований белкового состава молока сырого……. 44

1.7 Влияние технологических факторов переработки на белковый состав молока…….. 53

ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ…….. 60

2.1 Организация работы и схема проведения исследований…….. 60

2.2 Объекты исследований……. 60

2.3 Методы исследований……. 62

2.4 Лабораторное оборудование для проведения исследований…….. 65

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ И МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ НЕБЕЛКОВОГО АЗОТА В МОЛОКЕ СЫРОМ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ……. 73

3.1 Разработка методики измерений содержания сывороточных белков с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах…….. 73

3.2 Модификация методики измерений содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах……..... 82

ГЛАВА 4. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МОЛОКА СЫРОГО ПО БЕЛКОВОМУ СОСТАВУ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ…… 88
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ХРАНЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МОЛОКА СЫРОГО И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ……. 95
5.1 Изучение влияния температурной обработки на состав сырого молока……. 95
5.2 Изучение влияния мембранных способов обработки на состав сырого молока……. 98
5.3 Изучение влияния продолжительности хранения на состав сырого молока…….. 104
5.4 Изучение влияния продолжительности хранения на состав молочных продуктов……... 111
ВЫВОДЫ……. 118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ……. 120
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ……. 121
ПРИЛОЖЕНИЯ……..... 136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Важное место в исследованиях молочного сырья и молочной продукции принадлежит изучению белковой фракции. Содержание белка в молоке является, с одной стороны, основным показателем товарности, что привело к увеличению различных видов фальсификации составных частей белка, а с другой стороны – главным идентификационным критерием. При этом нормирование массовой доли белка на минимальном уровне установленное в ТР ТС 033/2013 и государственных стандартах, явно недостаточно для полноценного исследования качества молочного сырья и молочных продуктов в условиях современного производства.

Отсутствие четко обоснованных критериев оценки молока сырого по белковому составу привело к необходимости более детального изучения молока сырого по целому комплексу показателей, включая идентификационные параметры состава белка, такие как определение небелкового азота, соотношения отдельных белковых фракций и содержания минеральных веществ.

Исследование основных физико-химических показателей качества и свойств молока сырого рассмотрено в трудах Барабанщикова Н.В., Брио Н.П., Горбатовой К.К., Зайковского Я.С., Инихова Г. С., Калантара Ав. А., Крусь Г.Н., Охрименко О.В., Рогова И.А., Твердохлеб Г.В., Тёпел А., Харитонова В.Д., Шидловской В. П., Шуварикова А.С., Юровой Е.А., Badings H. T., Brew K., Donovan A., Haenlein G.F.W., Hambling S.G., Jenness R., Juarez M., Park Y.W., Ramos M., Walstra P. и других.

В связи со сложным составом молока и влиянием на него различных факторов, существуют определенные сложности в проведении исследований по определению белкового состава. В настоящее время появилась необходимость в разработке современных, высокоэффективных методик измерений (МИ) белкового состава, а именно содержания сывороточных белков и небелкового азота в молоке сыром и молочных продуктах. Это позволит на стадии входного

контроля не только прогнозировать качество вырабатываемой продукции, но и выявлять фальсификацию молочного сырья, как азотосодержащими компонентами, так и ингредиентами немолочного происхождения. Соответственно, анализ содержания сывороточных белков и небелкового азота является важной аналитической задачей, которая позволит установить требования и нормы для разного молочного сырья, а также внедрить разработанные МИ в обязательный контроль. От достоверности разработанных МИ и правильности их применения зависит качество молочной продукции, поступающей к потребителю, что является актуальным.

Целью настоящей диссертационной работы является разработка методов комплексной оценки белкового состава молока и молочных продуктов с учетом влияния технологических факторов переработки и продолжительности хранения.

Для достижения поставленной цели определены следующие **задачи**:

- определить основные показатели идентификации и оценки качества молочного сырья с учетом требований технических регламентов Таможенного союза (ТР ТС 021/2011, ТР ТС 033/2013), научной и патентной литературы;

- разработать методику измерений содержания сывороточных белков с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах;

- модифицировать методику измерений содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах;

- провести комплексную оценку белкового состава и физико-химических показателей молока сырого различных сельскохозяйственных животных с применением разработанных методик измерений;

- изучить влияние температурной и баромембранной обработки, продолжительности хранения на изменение белкового состава в молоке сыром и молочных продуктах;

- провести апробацию разработанных методик измерений белкового состава молока сырого и молочных продуктов в условиях производственной лаборатории перерабатывающего предприятия.

Научная новизна

Установлены диапазоны измерения содержания сывороточных белков и небелкового азота с целью идентификации белкового состава молочного сырья и молочной продукции.

Предложен алгоритм выявления фальсификации молочного сырья при внесении различных азотосодержащих компонентов и ингредиентов немолочного происхождения.

Получены новые данные по содержанию сывороточных и казеиновых белков, небелкового азота и общего белка в козьем и овечьем молоке.

Установлена зависимость белкового и солевого состава молока сырого от баромембранной и температурной обработки, продолжительности хранения, которая позволила определить наиболее существенные аспекты влияния данных факторов на качество готового продукта.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработаны и стандартизованы МИ идентификации белкового состава молочного сырья и молочной продукции:

- ГОСТ «Молоко и молочные продукты. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля»;

- ГОСТ «Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля».

Проведена апробация разработанных МИ содержания сывороточных белков и небелкового азота в молоке сыром и молочных продуктах при производственном контроле на перерабатывающем предприятии ОАО «Брянский Молочный Комбинат».

Положения, выносимые на защиту:

- разработанная МИ содержания сывороточных белков и модификация МИ содержания небелкового азота в молоке сыром и молочных продуктах;

- установленные диапазоны измерения содержания сывороточных белков и небелкового азота при внесении в продукт фальсифицирующих веществ;

- результаты исследований комплексной оценки белкового состава и физико-химических показателей коровьего, козьего и овечьего молока сырого с применением разработанных МИ;

- результаты оценки влияния температурной и баромембранной обработки, а также продолжительности хранения на изменение белкового и солевого состава молока сырого и молочных продуктов.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов подтверждается проведением исследований не менее чем в 3-5-кратной повторности, с применением современного оборудования и высокоэффективных методов анализа, с учетом методов статистической обработки данных. Доверительная вероятность исследований составила не менее 0,95.

Основные положения и результаты работы были обсуждены в рамках Международной конференции молодых ученых «Инновационные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции в условиях ВТО», г. Волгоград, 2013 г., золотая медаль; VII научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Научный вклад молодых ученых в развитие пищевой и перерабатывающей промышленности АПК», г. Москва, 2013 г.; Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной созданию объединенного аграрного вуза в Москве, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, 2014г.; VIII Международной конференции молодых ученых и специалистов «Фундаментальные и прикладные исследования по безопасности и качеству пищевых продуктов», ФГБНУ «ВНИИТеК», г. Видное, 2014 г., почетная грамота за именем В.К. Фортова; конкурса-гранта среди молодых ученых «Эстафета поколений» на лучшую научно-исследовательскую работу, ФГБНУ «ВНИМИ», г. Москва, 2014 г., золотая медаль; IX Международной конференции молодых ученых и специалистов «Повышение качества, безопасности и конкурентоспособности продукции агропромышленного комплекса в современных условиях» в ФГБНУ ВНИИПБиВП, г. Москва, 2015 г.; X Международной научно-практической

конференции молодых ученых и специалистов «Современные подходы к получению и переработке сельскохозяйственной продукции – гарантия продовольственной независимости России», г. Москва, 2016 г.; XI Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов в сфере сельскохозяйственных наук «Пищевые системы: теория, методология, практика», г. Москва, 2017 г.; Международного форума «Биотехнология: состояние и перспективы развития», г. Москва, 2018 г.; Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 150-летию со дня рождения В.П. Горячкина, на базе ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, 2018 г.

Публикации

По результатам диссертационной работы опубликовано 23 печатных работы, 5 из которых в научных журналах списка ВАК Российской Федерации.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методической части, экспериментальной части, основных результатов и выводов, списка использованной литературы, содержащего 104 отечественных и 49 зарубежных источников. Работа изложена на 141 страницах, включает 38 таблиц, 42 рисунка и 3 приложения.

ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Молоко как полидисперсная система

По определению Твердохлеб Г.В. и других ученых: «Молоко - это сложная полидисперсная система, в которой представлены все группы дисперсных систем: ономолекулярные растворы, высокодисперсные гетерогенные и микрогетерогенные системы, растворы высокомолекулярных соединений и коллоидные растворы поверхностно-активных веществ» [68,84,85].

Вода является дисперсионной средой в каждой из этих систем. Все другие компоненты молока составляют дисперсные фазы [84,85,94]. Составные части молока находятся в трех формах: молекулярно-ионной (лактоза и соли), коллоидной (белки) и взвешенной, в виде эмульсии (жир) [94].

Особый интерес для написания диссертационной работы вызывает самая чувствительная из всех фаз молока – это коллоидно-дисперсная система. По данным авторов [5,6,11,40,68,85]: «Коллоидную фазу молока образуют белки (казеиновые мицеллы, немицеллярный казеин, сывороточные белки), фосфат и цитрат кальция. Изменения в молоке наиболее заметны при нарушении коллоидного состояния, поскольку при этом происходит коагуляция белков. Такое неустойчивое поведение коллоидно-дисперсных частиц зависит от их размеров и связанной с этим общей поверхностью». Размеры коллоидных частиц молока, согласно литературным источникам [5,85,136], составляют (в нм): мицелл казеина – от 40 до 300, β-лактоглобулина – от 25 до 50, α-лактальбумина – от 15 до 20, фосфата кальция – от 10 до 20. По исследованиям Тёпела А. и др. авторов: «Отдельные мицеллы могут достигать 600-800 нм и относятся к тонкодисперсным частицам» [10,70,76,85,87,147].

По данным Остроумовой Т.А. и ряда авторов: «Частицы сывороточных белков молока представлены отдельными макромолекулами, а также их димерами и полимерами. Их макромолекулы свернуты в компактные глобулы, имеющие

отрицательный заряд и очень прочные гидратные оболочки. Они обладают большой устойчивостью в молоке, не коагулируют при достижении изоэлектрической точки. Выделить их можно путем уменьшения растворимости – введением в молочную сыворотку электролита (высаливанием) или нагреванием молока до высокой температуры, при которой они денатурируют, агрегируют с казеином и частично коагулируют» [6,10,68,85,95].

По мнению большинства специалистов: «Коллоидный фосфат кальция малорастворим в воде и образует неустойчивую коллоидную систему. Его растворимость повышается под влиянием казеина, вместе с которым он входит в состав мицелл.

Особый интерес представляет структура и величина частиц важнейшего компонента коллоидной системы – казеина. Казеин в молоке содержится в виде мономеров, так называемый растворимый казеин (около 5%), и в форме полимеров субмицеллярный и мицеллярный казеин (около 95%)» [6,11,68,85,95,136].

Мицеллы казеина состоят из нескольких сотен субмицелл диаметром 10 - 15 нм (рис.1). Субмицеллы – это агрегаты основных фракций казеина (α_S-, β- и κ), соединенных между собой гидрофобными, электростатическими, водородными связями и кальциевыми мостиками. Полипептидные цепи фракций казеина свертываются в субмицелле таким образом, что большинство гидрофобных групп составляют ее ядро, а гидрофильные располагаются на поверхности субмицелл. В состав субмицелл и мицелл молочного белка не входит γ-казеин - он находится в свободном состоянии [3,6,68,70,85,144].

Согласно исследованиям Охрименко О.В. и других ученых: «Распределение размеров казеиновых мицелл зависит от содержания кальция, фосфора, а самое главное от содержания κ-казеина. Субмицеллы отличаются различным содержанием κ-казеина, что означает наличие неактивных зон различных размеров. Субмицеллы с низким содержанием κ-казеина или совсем не содержащие его, располагаются внутри мицеллы, а с высоким содержанием - на поверхности. Рост мицеллы прекращается, когда вся ее поверхность образована из

к-казеина. Таким образом, происходит естественное ограничение роста мицеллы. Более крупные мицеллы казеина содержат больше фосфата кальция, а в мелких - больше к-казеина. Взаимодействие между казеиновыми мицеллами и сывороточными белками в нативном состоянии отсутствует. Стабильность коллоидного раствора обеспечивается наличием электрического заряда на поверхности коллоидно-дисперсных частиц и гидратных оболочек вокруг них» [70].

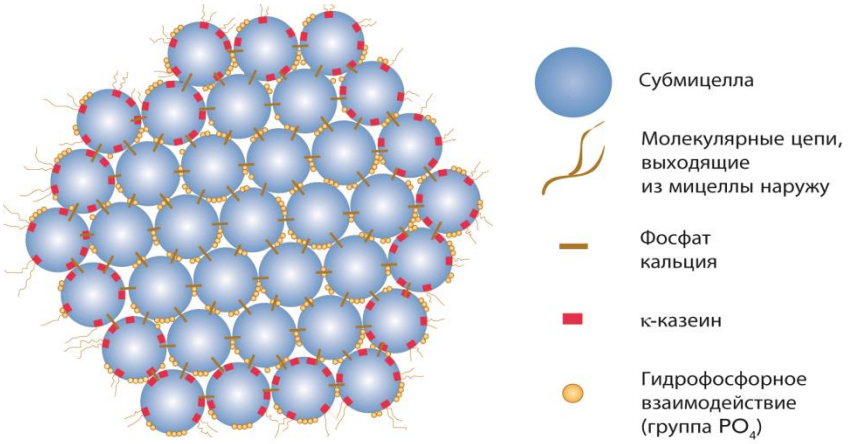


Рисунок 1 – Модель субмицеллы мицеллы казеина [3]

Ряд авторов в своих работах утверждают, что: «Для сывороточных белков (глобулярные белки) характерна компактная структура шарообразной или эллипсоидной формы. Внутримолекулярные дисульфидные мостики стабилизируют складки полипептидной цепи. Все сывороточные белки имеют близкую пространственную структуру, а именно гидрофобное ядро и поверхность, образованную полярными и электрически заряженными группами, которые с помощью водородных связей образуют гидратную оболочку. Сывороточные белки образуют гидрофильный золь, который не выпадает в осадок в изоэлектрической точке и коагулирует лишь при нагревании или при внесении большого количества электролита» [5,11,79,84,85,91,95].

«Немицеллярные казеины имеют развернутую структуру с четко выраженными гидрофильными и гидрофобными участками. Мономерные компоненты казеина ассоциированы в субмицеллы в результате гидрофобного и слабого электростатического взаимодействия, а также вследствие образования фосфат-кальциевых мостиков, формирование которых напрямую зависит от

концентрации ионов кальция в молоке и температуры. Стабильность казеиновых мицелл в системе обусловливает возникающее вокруг них ионное облако из положительно заряженных ионов кальция в качестве противоионов, создающее двойной электрический слой Штерна» [6,11,85].

В своих работах Тёпел А. и другие определили, что: «Эффективный заряд, образованный поверхностным зарядом самой частицы и зарядов противоионов, создает электрокинетический потенциал или ζ-потенциал. Расчетное значение ζ-потенциала = - 47,6 мВ. Экспериментальные показатели ζ-потенциала колеблются от - 48 мВ до - 15 мВ» [78,85,91]. Учеными доказано, что все факторы, «вызывающие снижение поверхностного электрокинетического потенциала, а следовательно и ζ-потенциала, уменьшают толщину гидратной оболочки и сводят к минимуму межмицеллярные силы отталкивания» [78,85,91]. В результате чего может произойти флокуляция и коагуляция казеиновых частиц, то есть переход золя в гель. Таким образом, существуют две различные формы коллоидного состояния - золь и гель [6,79,85,91].

Из литературных источников известно, что: «Распределение размеров казеиновых мицелл не постоянно. Оно зависит от содержания ионов Ca^{2+}, от равновесия между ионами кальция и коллоидным фосфатом кальция, а также от температуры молока. Между казеиновыми мицеллами, субмицеллами и немицелляным казеином сохраняется динамическое равновесие, в котором участвует также неорганический коллоидный фосфат кальция» [11,85,147].

В молоке, согласно исследованиям ряда ученых, «неорганические коллоиды представлены в основном гидрофосфатом кальция, фосфатом кальция, а также цитратом кальция, которые присутствуют в равновесии со свободными ионами Ca^{2+}, HPO_4^{2-} и цитрат-ионами» [5,11,85,95].

$$\underset{\text{Истинный раствор}}{x\,Ca^{2+} + x\,HPO_4^{2-}} \rightleftharpoons \underset{\text{Истинный раствор}}{x\,CaHPO_4} \rightleftharpoons \underset{\text{Коллоидная дисперсия}}{[CaHPO_4]_x}$$

$$\underset{\text{Истинный раствор}}{3x\,Ca^{2+} + 2x\,HPO_4^{2-} + 2x\,H_2O} \rightleftharpoons \underset{\text{Коллоидная дисперсия}}{[Ca_3(PO_4)]_x + x\,H_3O^+}$$

Согласно исследованиям Тёпела А. и нашим отечественным ученым: «При нагревании равновесие смещается в сторону образования коллоидных компонентов, при понижении уровня pH - в сторону увеличения количества истинно растворенных ионов. Особой формой коллоидного фосфата кальция являются фосфат-кальциевые кластеры, которые имеют состав ($Ca_3(PO_4)_2$). Они выполняют роль связующего звена между казеиновыми субмицеллами и соединены с остатками фосфосерина. Органические коллоидно-дисперсные частицы молока относятся к молекулярным коллоидам и макромолекулярным ассоциациям.

Молочный жир в молоке представлен в виде эмульсии, которая представляет собой простую форму смесей двух нерастворимых друг в друге жидкостей. Жир молока сразу после выдаивания находится в жировых шариках в жидком состоянии, а после охлаждения до температуры 4-10 °С и выдержки при этих условиях одна часть жира (тугоплавкие и среднеплавкие глицериды) переходит в кристаллическое состояние, а другая часть (легкоплавкие глицериды) остается в жидком состоянии» [6,11,79,84,85,91,95,119,144].

В трудах Остроумовой Т.А., Крусь Г.Н. и других: «Наряду с превращениями жира под действием низких температур изменяется состояние липопротеиновых оболочек жировых шариков. При охлаждении часть триацилглицеринов в жировых шариках кристаллизуется, в результате чего образуется трехфазная система (смесь эмульсии и суспензии).

Размер жировых шариков в молоке колеблется от 0,1 до 22 мкм, преобладают в среднем от 3 до 6 мкм» [55,68,85]. По мнению многих исследователей, «оболочка жировых шариков аналогична по составу и строению биологическим мембранам. Она состоит из липидов и белков, которые, располагаясь в определенном порядке, обеспечивают агрегативную устойчивость эмульсии» [68,85,107,112].

В состав оболочки жирового шарика входит до «сорока белковых компонентов, главным образом плохо растворимых гликопротеидов, содержащих

углеводы: галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилгклюкозамин, N-ацетилнейраминовую (сиаловую) кислоту» [68,85,107,112].

Гликопротеиды, относящиеся к внутренним белкам, как правило, пронизывают оболочки жирового шарика: один их конец взаимодействует со слоем высокоплавких триацилглицеринов, находящихся на поверхности глицеридного ядра, другой, содержащий углеводный компонент, выступает из мембран и ориентирован к водной фазе [68,85,107,112].

Основную часть гидрофобных белков составляет бутирофилин, который находится в «наибольшем контакте с жировой глобулой. К периферическим растворимым белкам оболочки жирового шарика относится более десяти ферментов: ксантиноксидаза; щелочная и кислая фосфатазы; 5 - нуклеотидаза; плазмин и др. Большая часть их идентична ферментам клеточных мембран. В оболочках жировых шариков обнаружены минеральные элементы: Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Se, Na и K» [6,11,68,85,107,112].

С эмульгированным состоянием жировых шариков связаны такие свойства молока, как цвет, вязкость, вкус, запах [11,68].

Согласно литературным источникам: «После выделения из молока жира и осаждения белков остается молочная сыворотка, представляющая собой истинный раствор. В виде истинного, или ионно- и молекулярно-дисперсного раствора в молочной сыворотке представлены соли кальция, натрия, калия, магния, молочный сахар (лактоза), а также водорастворимые витамины, небелковые азотистые соединения, органические кислоты, альдегиды и др. По данным ряда авторов, размеры молекул и ионов солей составляют менее 1нм, молекула лактозы 1 - 1,5 нм» [5,6,10,68,84,85,95,112].

Все соли натрия и калия (хлориды, гидро-, дигидрофосфаты и цитраты) практически полностью диссоциированы и содержатся в молоке в ионном состоянии [68,85].

Исследования многих ученых доказали, что: «Хлориды калия и натрия обусловливают осмотическое давление и электропроводность молока, фосфаты входят в состав его буферной системы.

В ионно-молекулярном состоянии в молоке содержится часть цитратов и фосфатов кальция и магния. Фосфаты кальция обладают малой растворимостью и незначительной степенью диссоциации, лишь небольшая часть их содержится в виде истинного раствора, а большая - в виде коллоидного раствора. Между ними устанавливается равновесие» [5,68,85,144]:

$$nCaHPO_4 \leftrightarrow (CaHPO_4)_n$$

истинный раствор коллоидный раствор

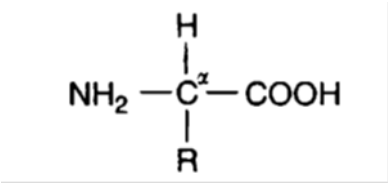
Как известно [5,11,68,84,85,91], «в растворе электролитов между ионами действуют силы притяжения и отталкивания. В концентрированных растворах сильные межионные взаимодействия приводят к взаимному связыванию ионов, что влияет на величину осмотического давления, температуры замерзания и электропроводности раствора.

Соотношение всех истинно растворимых веществ в молоке имеет определенную закономерность, при которой молоко имеет соответствующее осмотическое давление, температуру замерзания и температуру кипения, электропроводность и другие физико-химические свойства. Изменения перечисленных физико-химических свойств молока объясняются колебаниями концентрации истинно-растворимых составных частей. Любое изменение первоначального солевого равновесия влияет на растворимость отдельных солей и может вызывать дестабилизацию коллоидной системы молока (флокуляция белков при концентрировании и стерилизации)».

1.2 Белковый состав молока

Высокая пищевая ценность молока обусловлена, прежде всего, содержанием в нем легкоусвояемых белков [85]. По определению ряда авторов: «Белки – это высокомолекулярные соединения, состоящие из α-аминокислот, связанных между собой характерной для белков пептидной связью. В состав белков входят остатки 20 различных α-аминокислот, состоящих из α-углеродного

атома, ковалентно присоединенного к атому водорода, аминогруппе, карбоксильной группе и боковой группе R (формула 1)» [10,11,40,84,85,108,119].



(1)

Согласно Горбатовой К.К., Тёпелу А. и исследованию других ученых: «В состав белков входит около 53% углерода, 7% водорода, 22% кислорода, 15-17% азота и от 0,3 до 3% серы. Наряду с белками, в молоке содержатся азотистые соединения небелкового характера: свободные аминокислоты, пептиды, мочевина, аммиак, мочевая кислота и другие. Их количество составляет около 5% от общего содержания азота в молоке» [10,11,85,95,135,136].

В связи с определением массовой доли белка по общему азоту, то необходимо учитывать коэффициент пересчета на содержание общего белка для каждого объекта в отдельности. При содержании азота 15,65% в составе молочного белка коэффициент имеет следующее значение [85]:

$$\frac{100\%}{15{,}65\%} = 6{,}38 \qquad (2)$$

Коэффициент 6,38, установленный по результатам анализа по Хаммерстану и Себельсену, принят повсеместно и является нормативом, утвержденным Международной Молочной Федерацией (IDF), а также в государственных стандартах для молока и молочных продуктов [85].

Согласно литературным данным, «в молоке общее содержание белка находится в пределах от 2,8% до 4%» [2,3,5,11,48,85,87,91,133,137,142,144].

Используя современные способы разделения и выделения белков, исследователи установили, что в состав молока входят три основных группы белков [11,76,144].

В работах Горбатовой К.К. и других выдающихся ученых говорится, что: «К первой основной группе молочного белка относится казеин, содержащий 4 основные фракции (α_{s1}-, α_{s2}-, β- и κ-казеин) и их фрагменты. Вторая группа представлена сывороточными белками – β-лактоглобулином, α-лактальбумином,

иммуноглобулинами и альбумином сыворотки крови. Кроме того, в данную фракцию входят лактоферрин и некоторые другие, так называемые минорные белки. К третьей группе относят белки оболочек жировых шариков, ферменты, составляющие всего около 1% всех белков молока» [11,85,87,136].

Научно доказано, что: «Из молочных белков наибольший интерес представляют белки казеиновой фракции. Они являются главным компонентом белков молока, составляя основную часть сухого вещества в таких продуктах как сыр, творог и молочные белковые концентраты» [11,85]. Исходя из литературных источников [11,85], содержание казеина в молоке колеблется от 2,1 до 3,2%. На казеин приходится 78 - 82% от общего количества молочных белков [11,85,87,136,137]. В коровьем молоке представлены четыре основные фракции казеина, состоящие из первичных α_{s1}-, α_{s2}-, β- и κ-казеина, а также β-казеиновых фрагментов (γ-казеинов), возникающих из β-казеина и ферментов под воздействием плазмина [11,85,87,136,137].

Соотношение массовых долей казеиновой фракции α_{s1}-, α_{s2}-, β- и κ-казеинов, согласно литературным данным [85,87,137,150], составляют соответственно 27-38%, 10-12%, 25-38% и 8-12%. На долю фрагментов β-казеина приходится около 3% [85,87,137]. Процентное содержание основных фракций казеина коровьего молока представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Состав мицелл казеина [85,87,105,118,136]

Белок	Содержание в молоке, г/л	Молекулярная масса, г/моль	Изоэлектрическая точка, pH	Количество аминокислот в молекуле
α_{s1}-казеин	12-15	23612	4,4-4,8	199
α_{s2}-казеин	3-4	25228	-	207
β-казеин	9-11	23980	4,6-4,7	209
κ-казеин	2-4	19005	5,4-5,8	169

α_{s1}-казеин (α_{s1}-CN) составляет 27 - 38% и является основным компонентом казеинового комплекса молока [85,118]. Известны пять его генетических вариантов – A, B, C, D, E, обозначающие электрофоретическую подвижность в порядке убывания [85,87,118]. В работах Park Y.W. и других описано, что:

«Молекула α_{s1}-CN представляет собой простой полипептид, состоящий из 199 α-аминокислот, в котором восемь аминокислотных остатков серина связаны с остатками фосфорной кислоты. Для α_{s1}-CN характерно высокое содержание пролина, который, как известно, препятствует образованию α-структуры в полипептидной цепи, поэтому молекула имеет слабо выраженную α-структуру» [85,117,118,]. Ассоциация α_{s1}-казеина при нейтральной величине pH зависит от ионной силы раствора и температуры [87,117]. Как писал Тёпел А.: «Этот тип казеина очень чувствителен к диссоциированному кальцию и выпадает в осадок уже при концентрации Ca^{2+} 7 ммоль/л» [79,85].

α_{s2}-казеин (α_{s2}-CN) составляет около 10 - 12% и его последовательность состоит из 207 α-аминокислот [85,110]. Известны четыре варианта (A, B, C и D), которые различаются только по уровню фосфорилирования [85,147]. α_{s2}-CN обладает такой же способностью к ассоциированию и чувствительностью к содержанию кальция, как и α_{s1}-CN [87,144,147].

β-казеин (β-CN) составляет около 25 - 38% и состоит из 209 α-аминокислот [85,118]. Известны семь генетических вариантов этого белка – A^1, A^2, A^3, B, C, D и E, который представляет собой одноцепочный полипептид с пятью (A^1, A^2, A^3, B, E) и четырьмя (C, D) фосфосериновыми остатками [85,117]. Молекулы этого типа β-CN наиболее гидрофобны, они содержат большое количество пролина и имеют слабо выраженную α-структуру, N-концевой участок, который несет большую часть отрицательного заряда полипептида, в то время как C-концевой участок является гидрофобным, так как содержит большое количество неполярных аминокислот [85,87,117]. β-CN менее чувствителен к содержанию кальция, чем α_{s1}- и α_{s2}-казеины [85,136]. Его ассоциация с образованием более крупных частиц в значительной степени зависит от температуры, что указывает на гидрофобное взаимодействие [65].

Согласно литературным источникам: «κ-казеин (κ-CN) является той фракцией белка, которая обеспечивает стабильность казеиновых мицелл [85]. Молекула κ-казеина состоит из 169 α-аминокислот, что составляет около 8 - 12% содержания [117,147]. Известны три генетических варианта (A, B и C) κ-CN,

которые являются гликомакропептидами [79,85,87]. В отличие от всех остальных казеинов, в части молекул κ-CN присутствует углеводный компонент [85]. Технологически значимыми различиями между κ-CN и остальными типами казеиновой фракции белка являются его нечувствительность к содержанию кальция и способность к свёртыванию под действием сычужного фермента [85].

Казеины являются основными белковыми компонентами не только коровьего, но также козьего молока [85,137]. Козье молоко имеет шесть основных белковых фракций, в частности: β-лактоглобулин (β-LG), α-лактальбумин (α-LA), κ-казеин, β-казеин, α_{s1}-казеин и α_{s2}-казеин, которые практически не различаются с белковыми мицеллами коровьего молока [137,138,139], но отличаются в генетических полиморфизмах и их частотой встречаемости в популяциях коз [121,132].

Размеры мицелл казеина коровьего молока меньше (60 - 80 нм), по сравнению с мицеллами козьего молока, которые варьируются от 100 до 200 нм. Еще одним существенным различием является уровень содержания α_{s1}-казеина, который в козьем молоке может быть до 7 г/л. Изменчивость связана с полиморфизмом в пределах генотипа α_{s1}-казеина, который у коз является общим [114]. Козье молоко заметно отличается по содержанию α_{s1}-казеина и α_{s2}-казеина по сравнению с коровьим молоком. Различие обусловлено тем, что в козьем молоке значительно ниже (или полностью отсутствует) содержание α_{s1}-казеина и более высокое содержание α_{s2}-казеина, чем в коровьем молоке. Изменчивость соотношения казеина в козьем молоке, в частности соотношение α_{s1}-казеина к α_{s2}-казеину, может повлиять на структуру мицелл и, возможно, на содержание кальция [7,41,77,82].

Фракция β-казеина является основным компонентом казеиновой фракции в козьем молоке, в то время как α_{s1}-казеин является основной белковой фракцией в коровьем молоке. Lamothe S. и соавторы обнаружили, что экстракция β-казеина в козьем молоке на 53% выше, чем в коровьем молоке [129,130]. Относительное отсутствие α_{s1}-казеина и высокое содержание β-казеина делают козье молоко приближенное к женскому молоку. β-казеин оказывает влияние на структурные и

питательные различия между белком козьего и коровьего молока [77,120,121,138]. Белки козьего молока более усваиваемые, чем коровьего молока, что связано с высоким уровнем содержания α_{s2}-казеина [120,121,138].

Как указывают литературные источники: «После выпадения казеина в осадок при температуре 20˚С и при величине pH 4,6 в молоке или же под воздействием сычужного фермента в полученной молочной сыворотке остаются около 0,6% молочных белков, которые называются сывороточными» [11,85,78,79]. По данным различных исследований, процент сывороточных белков в молоке составляет около 20% от общего белка молока, что зависит от способа выращивания, генотипа коров, зоотехнических факторов [79,116], селекции [107], породы и сезона [115].

Согласно литературным источникам [11,85,136,139] среди сывороточных белков основными фракциями являются β-лактоглобулин, составляющий 50 - 58% от общей массы сывороточных белков, и α-лактальбумин, на долю которого приходится 21% [79], а также альбумин сыворотки крови (7%), иммуноглобулины (14%) и лактоферрин (2%), протеозопептонная фракция (2,4%) (таблица 2) [85].

Таблица 2 – Белки молочной сыворотки [79,84,85,87,111,113,123,139,144]

Белок	Содержание в молоке, г/л	Молекулярная масса, г/моль	Изоэлектрическая точка, pH
β-лактоглобулин	2,9 - 3,3	18362	5,1-5,3
α-лактальбумин	0,7 - 1,2	14174	4,2-4,5
Лактоферрин	0,02-0,1	78000-80000	8,0 - 8,8
Альбумин сыворотки крови	0,3	69000	4,7-4,9
Протеозопептонная фракция	1,2	4000-41000	3,3-3,7
Иммуноглобулины: IgG IgA IgM	0,5-1,0 0,35-,065 0,01 0,09	 150000-163000 400000 1000000	5,5-8,3

При изучении сывороточных белков ряд ученых установили, что: «Сывороточные белки имеют глобулярную форму, и, в отличие от казеиновой фракции, их структура более компактна в связи с незначительным содержанием

пролина и наличием дисульфидных мостиков между молекулами цистеина. Высокое содержание молекул цистеина и незаменимых α-аминокислот обусловливают более высокую биологическую ценность сывороточных белков по сравнению с белками казеиновой фракции» [85].

Согласно Трухачёву В.И.: «Белки молочной сыворотки можно разделить на две группы: термолабильные и термостабильные. К термолабильным белкам относят лактоальбуминовую и лактоглобулиновую фракции сывороточных белков, которые осаждаются в кислой среде при кипячении в течение 30 мин. Термостабильные белки, протеозопептонная фракция при этом остаются в растворе, но осаждаются, например, 12% трихлоруксусной кислотой» [87].

Особое внимание в своих работах Трухачёв В.И., Рогов И.А., Тёпел А. и другие ученые уделили β-лактоглобулину: «*β-лактоглобулин* (β-LG) – основной белок молочной сыворотки, который неоднороден по составу. Он представлен несколькими генетическими вариантами A, B, C, D, E, F, G, отличающимися по аминокислотному составу. Данный белок не растворим в воде, растворим только в разбавленных солевых растворах при pH 3 - 8 [79,85,87,141]. В молоке этот белок находится в виде димера, состоящего из двух полипептидных цепей, содержащих 162 α-аминокислот с относительной молекулярной массой около 18 300 г/моль [79,85]. При нагревании свыше 30˚С β-LG распадается на мономеры, которые при дальнейшем нагревании агрегируют за счёт образования дисульфидных связей [78,79,141]. β-LG – термолабильный сывороточный белок. Повышение температуры молока до 65 - 90˚С приводит к конформационным изменениям в молекуле данного белка и освобождению реакционноспособных групп» [87,141]. Изоэлектрическая точка β-LG при значении pH 5,2.

В настоящее время биологическая роль β-LG окончательно не выяснена. Учёные предполагают, что он участвует в транспорте жирных кислот и ретинола, играет роль в ферментативном регулировании и пассивном иммунитете новорожденных [112,122,125,127], но в первую очередь он является важным источником незаменимых аминокислот.

α-лактальбумин (α-LA) занимает второе место по содержанию в молоке после β-лактоглобулина. На его долю приходится 20 - 25% от сывороточных белков и примерно 2 - 5% от общего количества белка [11,79,84,85,131,136,135]. Полипептидная цепь α-LA состоит из 123 α-аминокислот и имеет молекулярную массу около 14 175 г/моль [79,85,131,136]. В её состав входят восемь молекул цистеина, которые образуют четыре дисульфидных мостика между аминокислотами (-S-S-) [79,85,131,149]. В α-LA самое высокое содержание триптофана среди всех пищевых белков – 6,6% [85,131,149]. По данным Тёпела А. и других, у данного белка наблюдается самое низкое значение изоэлектрической точки (при pH 4,8), а также самая низкая растворимость в растворе NaCl концентрацией 0,5 моль/л [78,79,85,131].

Согласно материалам статьи Hiraoka и др.: «α-LA является металлопротеином, то есть способен связывать ионы кальция, которые играют важную роль в стабилизации его третичной структуры.

α-LA устойчив к нагреванию, он является самой термостабильной частью сывороточных белков. Большая устойчивость α-LA к нагреванию обуславливается обратимостью денатурации белка – после охлаждения наблюдается восстановление 80 - 90% его нативной структуры за счёт самопроизвольного повторного свертывания цепей. Этот процесс называется ренатурацией. Для ренатурации α-LA необходимы ионы кальция, которые стабилизируют его пространственную структуру» [11,79,85,109,123].

Учёными за последнее время была расшифрована биологическая функция α-LA, которая заключается в «регулировании синтеза лактозы из УДФ-D-галактозы и D-глюкозы» [85,109].

Альбумин сыворотки крови (BSA – blood serum albumin) не является продуктом синтеза молочной железы, но напрямую переходит в молоко из крови [85,136,139]. Альбумин представляет собой многофункциональный белок и главным образом отвечает за поддержание pH крови, но также действует как отличный резервный белок и функционирует как важный транспортный белок для большого разнообразия лигандов, включая жирные кислоты, стероидные

гормоны, билирубин и ионы металлов [111]. Этот белок также может связывать металлы и жирные кислоты и тем самым способствовать действию липаз [85,126].

Walstra и Jenness обнаружили, что содержание BSA в общем объеме молочного белка составляет около 1,2%, при концентрации в молоке – около 0,4 г/л [85,149]. Альбумин сыворотки крови содержит 582 α-аминокислоты – самое большое количество α-аминокислот в одной мономерной полипептидной цепи. Молекулярная масса составляет 66 276 г/моль [11,79,85,149]. Согласно последним исследованиям учёного Król J. и др., содержание BSA в молоке составляет от 0,41 до 0,47 г/л и его содержание зависит от породы коров [127].

Иммуноглобулины являются «сложными высокомолекулярными белками, которые выполняют биологическую функцию антител [11,79,85,136]. Антитела - вещества, образующиеся в организме животного при введении в него различных чужеродных белков (антигенов) и нейтрализующие их вредное действие [11,85,95,136]. В молоке их мало, всего 1,9 - 3,3% общего количества белка, а в молозиве они составляют основную массу 70 - 80% от общего белка» [79,95,126]. Основными классами иммуноглобулинов в молоке являются – IgA, IgG и IgM [85,136]. У IgG имеются два подкласса – IgG_1 и IgG_2 [85,137].

Молекулы иммуноглобулинов присутствуют в мономерной и полимерной форме. Они относятся к гликопротеинам с высокой гетерогенностью [79,85,87]. Молекулярная масса легких цепей составляет 20 000 – 25 000 г/моль, тяжелых – 50 000 – 70 000 г/моль [79,85]. В таблице 3 представлено содержание иммуноглобулинов в молоке.

Таблица 3 – Содержание иммуноглобулинов в молоке [115,118,138,139]

Иммуноглобулин	Csapó & Csapóné (2002)	Farrell et al. (2004)	Park et al. (2007)
IgG	-	-	590 мкг/мл
IgG_1	1,2–3,3%	0,3–0,6 г/л	-
IgG_2	0,2–0,7%	0,05 г/л	-
IgA	0,2–0,7%	0,01 г/л	140 мкг/мл
IgM	0,1–0,7%	0,09 г/л	50 мкг/мл

Иммуноглобулины – термолабильные белки. Их денатурация начинается при нагревании молока уже при 70°С [11,85,87]. Пастеризация молока при 72˚С в течении 15с, или длительное нагревание молока приводит к денатурации иммуноглобулинов почти на 10%. УВТ-обработка, проводимая при 138˚С в течении 4с, почти полностью устраняет их иммунологическую активность [85].

По определению Park Y.W., Рогова И.А. и др.: «*Лактоферрин* – это железосвязывающий белок, по свойствам похожий на трансферрин крови, но отличающийся от него аминокислотной последовательностью» [79,136]. Лактоферрин - гликопротеин с относительной молекулярной массой примерно 77 000 г/моль [11,79,136]. В работах Riechel P. и др. изучено, что: «Главная функция лактоферрина коровьего и женского молока, как и трансферрина, - транспорт железа. Он также выполняет другие функции, например, регулирует поступление железа в организм вскармливаемого детеныша, при этом в зависимости от степени насыщения железом организма предохраняет его от избытка железа или, наоборот, усиливает его всасывание через слизистую кишечника. Кроме того, лактоферрин относится к защитным белкам молока, т.е. оказывает бактериостатическое действие на микрофлору кишечника, связывая в желудочно-кишечном тракте железо и делая его недоступным для микроорганизмов (E. Coli и др.), а также усиливает бактерицидное действие лизоцима» [11,79,143].

По данным ряда исследований, опубликованных по содержанию лактоферрина коровьего молока, уровни трансферрина и лактоферрина варьируются в довольно широких пределах от 2 до 20 мг/дм^3, соответственно [138]. Однако эти уровни значительно ниже (т.е. примерно 1 мг/мл и 0,2 мг/мл в молозиве и молоке, соответственно) по сравнению с женским молоком (2 мг/мл лактоферрина) [118,119,138]. Другие же авторы обнаружили более высокое содержание лактоферрина в молоке, которые получены с учетом породы коров и влияния времени года (56,10-164,12 мкг/мл, [143]; 70-110 мг/л, [130]; 1,11-1,37 г/л, [142]; 91,4-128,7 мг/л,[127]).

Белки оболочек жировых шариков (мембранные белки) – это группа белков, которые образуют защитный слой вокруг шариков жира для стабилизации его

эмульсии [79,85,107,112,145]. Они составляют лишь 1 - 4% от общего количества молочного белка [79,85,145,148]. В зависимости от источника белки оболочек жировых шариков состоят из 25 - 60% белка, а масса жировых шариков составляет 2 - 6% от их общей массы [145,148]. Рогов И.А. и другие научные исследователи в своих работах описали, что: «Оболочка жировых шариков (ОЖШ) имеет толщину около 10 нм и представляет собой сложный комплекс структурных белков, главным образом гликопротеинов, ферментов, фосфолипидов, холестерина и других липидных веществ. Всего в ОЖШ обнаружено до 40 белковых компонентов, большая доля которых приходится на гликопротеины молекулярной массой от 45 до 200 кДа, содержащие 15 - 50% углеводов и характеризующиеся различной растворимостью в воде» [11,78,79,85,112,145,148].

Белки молочной сыворотки козьего молока содержат, главным образом, альбумин, β-LG и α-LA. Уровень α-LA молочной сыворотки коз, согласно ряду исследований Войтовой Е.В. [7], почти в два раза больше, чем в коровьем молоке, в то время как в соответствии с исследованиями Симоненко С.В. и др., его содержание примерно одинаково у молока коровы и козы [82]. Содержание β-LG в козьем молоке практически вдвое больше, чем α-LA [99,138].

Небелковые азотсодержащие соединения, обычно характеризующиеся содержанием небелкового азота (НБА), относятся к низкомолекулярным органическим веществам, которые растворяются в 12%-ной трихлоруксусной кислоте [85,96,97,98,106,144]. Согласно Тёпелу А. и ранним исследованиям Дженнесс и Паттон, содержание НБА в молоке составляет около 200-500 мг/дм^3 [85,106,136]. Это соответствует примерно 2 - 6% общего количества азота, определяемого по Кьельдалю [84,85,97,98,136]. Соединения НБА представляют собой промежуточные и конечные продукты обмена веществ, которые попадают в молоко напрямую через систему кровообращения или из тканей молочных желез. Их концентрация, как было изучено, зависит от стадии лактации, породы животных, сезона, условий содержания животных и качества состава кормов [85,96,133,134,151]. Содержание НБА в свежем молоке, учитывая вышеназванные

факторы, практически постоянно. В процессе хранения этот показатель повышается вследствие протеолитической активности микроорганизмов, особенно психротрофных бактерий [85,97,151].

В работах Шидловской В.П., Юровой Е.А. и др. ученых изучено, что: «Мочевина является главным конечным продуктом азотистого обмена у жвачных. Нормальное содержание мочевины в крови и молоке составляет от 15 до 30 мг%. При избыточном поступлении с кормом белков и других азотистых веществ уровень ее в крови и молоке повышается. Увеличение количества мочевины, как правило, наблюдается в весенне-летний период при избыточном потреблении животными белков с зеленым кормом, а также при скармливании им больших доз карбамида, а также при внесении больших количеств азотных удобрений на пастбища.

Пептиды и аминокислоты относящихся к промежуточным продуктам азотистого обмена в молоке содержатся около 5-8 мг %. Эти небелковые азотистые соединения молока являются одним из основных источников азотистого питания микроорганизмов заквасок. Поэтому наблюдаемое весной ослабление развития молочнокислых бактерий в процессе производства может быть обусловлено наряду с другими причинами и низким содержанием в молоке свободных аминокислот. Их количество весной составляет 2,7 мг%, в то время как летом оно почти в два раза выше. В молоке весеннего периода понижено содержание таких важных для молочнокислых бактерий аминокислот, как аргинин, валин, метионин, лейцин, фенилаланин и тирозин» [85,96,98,133,151].

Общее количество креатина и креатинина в молоке не превышает от 2,5 до 4,5 мг%. В свежевыдоенном молоке содержание аммиака невысокое от 0,3 до 1 мг%, но оно может повышаться при хранении молока вследствие развития посторонней микрофлоры.

При анализе научных исследований ряда ученых выявили, что: «Специфической особенностью молока жвачных животных является высокое содержание оротовой кислоты, образующейся в процессе синтеза пиримидиновых азотистых оснований (урацила, цитозина и тимина). В коровьем молоке ее

содержание составляет от 2 до 8 мг % (в овечьем около 30 мг %), а в молоке остальных млекопитающих - от 0,2 до 0,3 мг %. Высокое содержание оротовой кислоты в коровьем молоке объясняется тем, что секреторные клетки молочной железы, по-видимому, не обладают способностью удерживать ее после синтеза в цитоплазме и «теряют» в молоко. Содержание таких конечных продуктов азотистого обмена, как мочевая и гиппуровая кислоты, в молоке незначительно и в сумме составляет от 0,7 до 1,5 мг %» [85,96,98,106,133,134,136,151].

Согласно оценке полученным литературным данным средние концентрации НБА в молоке различны. Значение составных компонентов НБА представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Содержание небелковых азотистых соединений в коровьем молоке и их концентрации [85,119,151]

Наименование небелковых азотистых соединений	Среднее содержание, мг/дм^3	Наименование небелковых азотистых соединений	Среднее содержание, мг/дм^3
Глютаминовая кислота	4,0-32	Таурин	1,0-7,0
Глицин	2,0-5,0	Индоксилсерная кислота	0,124
Треонин	0,8-1,4	1-Пропиламин	3-15
Изолейцин	0,2-0,9	1-Гексиламин	5-24
Аспарагиновая кислота	0,7-2,9	Этаноламин	0,5-8,5
Лизин	2,8-8,1	Холин (общий)	43-285
Аргинин	2,8-8,1	Спермин	0,006-0,017
Гистидин	0,7-5,5	Спермидин	0,09-0,028
Валин	0,6-1,5	Карнитин	4,9-35
Лейцин	0,3-0,9	Пептиды	32-200
Фенилаланин	0,1-0,3	Мочевина	83,8-300
Тирозин	0,1-0,5	Креатин	25,5-77,0
Цистеин	0,0-5,8	Креатинин	9
Серин	0,8-2,8	Оротовая кислота	14,6-75
Метионин	0,3-0,7	Соли NH_4^+	6,7-12
Гидроксипролин	0,1	Мочевая кислота	7,8-85
α-Аминоянтарная кислота	0,1-0,4	Гиппуровая кислота	4,4-50
Орнитин	0,3-2,2	N-ацетилглюкозамин	11
Гистамин	0,03-0,05	N-ацетилнейраминовая кислота	120-270

1.3 Микро - макроэлементный состав молока

По определению Остроумовой Т.А. и др.: «Минеральные вещества находятся в молоке в основном в виде солей, часть их, например сера и фосфор, входят в состав органических соединений. Под солями молока следует понимать катионы металлов, а также неорганические и органические анионы молока» [5,10,11,63,68,84,85,95].

В зависимости от концентрации в молоке минеральные вещества классифицируются на 2 группы: макроэлементы (Ca, P, Mg, Na, K, Cl) и микроэлементы (Fe, Cu, Zn, Se, Mn, I, F, Cr, Pb, Cd, Co, Mo, As, Ni, Si, B) [11,85].

Основными минеральными веществами молока являются кальций, магний, калий, натрий, фосфор, хлор и сера, а также соли – фосфаты, цитраты и хлориды.

Макроэлементы формируют пищевую ценность молока и молочных продуктов, стабилизируют коллоидное состояние белков, оказывают важное, с точки зрения технологии, свертывающее действие, обусловливают буферные свойства молока [68,85,136].

Кальций (Ca) находится в молоке в легко усвояемой и хорошо сбалансированной с фосфором форме. По литературным данным: «соли кальция имеют огромное значение для протекания процессов переработки молока. Например, недостаточное количество солей (ионов) кальция обусловливает медленное сычужное свертывание молока (в сыроделии считается нормальным содержание 125 – 130 мг % кальция в молоке), а их избыток вызывает коагуляцию белков молока при стерилизации» [85,136,146].

Согласно анализу литературных источников: «Содержание кальция в коровьем молоке колеблется от 100 до 140 мг% (козье и овечье молоко содержат 140 – 170 мг%, а женское – ниже 50 мг%)» [7,11,82,85,95,99,138]. Концентрация кальция в молоке считается относительно постоянной, но в некоторых случаях могут наблюдаться небольшие изменения. По литературным данным: «содержание кальция зависит от рационов кормления, породы животных, времени

года. Особенно отмечается влияние породы на содержание кальция в молоке, в молоке коров джерсейской породы содержится больше кальция, чем в молоке коров голштинской породы. Летом содержание кальция ниже, чем зимой» [85].В молоке с высоким содержанием белка содержание кальция выше. Концентрация кальция также зависит от стадии лактации, а именно содержание кальция в молозиве намного выше, чем содержание кальция в нормальном молоке, что ближе к концу лактации [85,119,134,136,146].

Необходимо подчеркнуть, что кальций в молоке находится в трех формах:

- «в виде свободного или ионизированного кальция (равного 8,5 – 11,5 мг% и составляющего около 10% всего кальция);

- в виде фосфатов и цитратов кальция – около 68%. Большая часть этих солей (в основном фосфаты кальция) содержится в коллоидном состоянии (в виде агрегатов молекул) и небольшая часть (около 30%) – в виде истинного раствора;

- в виде кальция, прочно связанного с казеином – около 22% (от его содержания зависят размер казеиновых мицелл и их устойчивость)» [11,68,85].

Свободный кальций, или ионизированный, постоянно участвует в процессах обмена веществ, свертывании крови, обеспечивает работу проводящей системы сердца, словом, выполняет жизненно важные «активные» функции организма. Связанный кальций в виде сложных соединений находится в так называемых депо, или запасах организма [68,85].

По данным авторов [11,68,85,115,136,146] 99% кальция находится в обезжиренном молоке, где он распределяется между мицеллярными (около 800 мг/л) и водными фазами (около 400 мг/л). В водной фазе кальций является свободным (ионный Ca2+) и частично связанный с цитратом и неорганическим фосфатом с образованием солевых остатков. В водной фазе небольшая часть кальция также связана с сывороточными белками, такими как α-лактальбумин и остеопонтин. В мицеллярной фазе кальций взаимодействует с органическим фосфатом (фосфосерильные остатки молекул казеина) и неорганическим фосфатом [85].

Эти мицеллярные соединения между кальцием и фосфатами формируются в виде небольших гранул (называемых нанокластерами), имеющими диаметр около 3 нм [136], но их точный химический состав пока неизвестен. Кальций и неорганический фосфат, присутствующие в одной фазе, могут переходить в другую в зависимости от физико-химических условий [139]. Одной из наиболее важных таких модификаций является биологическое подкисление молока при ферментации лактозы до молочной кислоты. Во время этой стадии кальций солюбилизирует и переносится в водную фазу подкисленного молока [146].

Содержание кальция в молоке и некоторых молочных продуктах представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Содержание кальция в молоке и некоторых молочных продуктах [11,85,92,93,136]

Наименование продукта	Содержание кальция, мг/100г
Молоко: - коровье - овечье - козье - кобылье	 118-134 178-193 120-143 80-110
Кефир	90-120
Сметана	80-130
Ацидофилин	90-120
Простокваша	110-126
Йогурт	80 - 124
Творог	90-200
Сливки	50-110
Мороженое сливочное	84-140
Молоко сгущенное с сахаром	200-307
Твердые сыры	850 - 1200
Плавленые сыры	430 – 760
Брынза	530-630
Сливки сухие	700-1090
Молоко сухое обезжиренное	912-1290

Распределение и форма кальция зависят от вида молока и молочных продуктов. Таким образом, в кисломолочных продуктах с pH, близким к 4.6, кальций в основном находится в ионной форме (Ca^{2+}). В зрелых сырах (Камамбер,

Чеддар и Эмменталь) кальций может существовать в различных химических и физических формах осадка фосфата кальция, лактата кальция и карбоната кальция [85,137].

Содержание фосфора (P) в молоке колеблется в пределах от 60 до 120 мг%. В своих работах Park Y.W. и соавторы пишут, что: «Фосфор мало меняется в течение года, лишь незначительно снижается весной, а больше зависит от рационов кормления, породы животного и стадии лактации. В молоке фосфор существует в органической и неорганической формах. В органической форме фосфора фосфат связан с органическими молекулами, такими как казеин (фосфорилирование серина с образованием фосфосерильных остатков), фосфолипиды, нуклеиновые кислоты, нуклеозиды, нуклеотиды и фосфат сахара. Ион фосфата может быть по-разному ионизирован в зависимости от pH. При pH молока (около 6,7) имеется кислотно-щелочное равновесие между формами HPO_4^{2-} и $H_2PO_4^-$, что усложняет различные формы фосфора, которые обнаружены в разных компонентах молока. В молоке органическая форма фосфора в основном связана с молекулами казеина, которые находятся в мицеллярной фазе. Другие органические формы фосфора (фосфолипидов, нуклеозидов, нуклеотидов, фосфата сахара) находятся в водной фазе» [85,136,137].

«Неорганические соединения фосфора представлены фосфатами кальция и других металлов, их содержание составляет 45 - 100 мг%. Неорганическая форма фосфора распределяется между водной и мицеллярной фазами и способствует минеральному равновесию молока». При pH 6,7 неорганическая форма фосфора находится 50% в водной фазе и 50% в мицеллярной фазе, образуя нанокластеры из фосфата кальция. Во время переработки молока в молочные продукты неорганическая форма фосфора переносится в водную фазу, особенно во время нарастания кислотности [137]. Следовательно, он теряется, когда сыворотка удаляется во время технологического процесса, например при производстве сыра. Это объясняет различное содержание фосфора, полученное при измерении в разных молочных продуктах (таблица 6). Протеолиз во время созревания сыра

также индуцирует образование фосфопептидов из молекул казеина, которые имеют свойство связывать кальций и другие катионы [85,119,136,137,146].

Таблица 6 - Содержание фосфора в молоке и некоторых молочных продуктах [11,85,92,93,136]

Наименование продукта	Содержание фосфора, мг/100г
Молоко: - коровье - овечье - козье - кобылье	 70-95 110-158 80-111 54-56
Кефир	60-90
Сметана	59-71
Ацидофилин	70-92
Простокваша	70-96
Йогурт	72-95
Творог	90-224
Сливки	58-88
Мороженое сливочное	78-107
Молоко сгущенное с сахаром	219-253
Твердые сыры	500-640
Плавленые сыры	680-700
Брынза	375-420
Сливки сухие	500-543
Молоко сухое	776-920

Содержание магния (Mg) в молоке незначительно и составляет 12 - 14 мг%. Анализ научной литературы показывает, что: «Магний является необходимым компонентом животного организма – он играет важную роль в развитии иммунитета новорожденного, увеличивает его устойчивость к кишечным заболеваниям, улучшает их рост и развитие, а также необходим для нормальной жизнедеятельности микрофлоры рубца крупного рогатого скота, положительно влияет на продуктивность взрослых животных. Состав солей магния аналогичен составу солей кальция, но на долю солей, находящихся в истинном растворе, приходится 65 - 75 %» [68,85,136,137].

Как уже отмечено для кальция, «99% иона магния находится в обезжиренном молоке, где он распределяется между мицеллярными (50 мг/л) и

водными (70 мг/л) фазами» [136]. Этот ион связан с неорганическим фосфатом и цитратом в водной фазе и в нанокластерах мицелл казеина. Это распределение чувствительно к физико-химическим параметрам молока, особенно значениям активной кислотности (pH). Таким образом, во время подкисления молока мицеллярный магний солюбилизируется в водной фазе подкисленного молока [85,137].

Согласно работам Горбатовой К.К., Тёпела А. и др.: «Соли калия (K) и натрия (Na) содержатся в ионно-молекулярном состоянии в виде хорошо диссоциирующих хлоридов, фосфатов и цитратов. Содержание калия в молоке колеблется от 113 до 170 мг %, натрия - от 30 до 77 мг %. Эти концентрации могут значительно повышаться в молоке коров во время мастита. Соли калия и натрия имеют большое физиологическое значение. Они создают нормальное осмотическое давление крови и молока и обусловливают их буферную емкость. Кроме того, фосфаты и цитраты калия и натрия обеспечивают так называемое солевое равновесие молока, т. е. определенное соотношение между катионами кальция (и магния) и анионами фосфатов и цитратов. Иначе говоря, фосфаты и цитраты калия и натрия регулируют в молоке количество ионизированного кальция, влияющего на размеры и стабильность казеиновых мицелл» [11,85,137].

Из литературных источников определен диапазон содержания хлоридов (Cl) «в коровьем молоке составляет от 45 до 110 мг%. При заболевании животных маститом их количество в молоке резко повышается до 120 – 165 мг % и выше» [85,119,136,137].

Микроэлементы. При изучении содержания микроэлементов выявили, что: «Концентрацию микроэлементов в молоке чаще всего выражают в микрограммах (мкг) на 100 г продукта. Содержание микроэлементов подвержено изменениям в течение всего периода лактации коров, также очень сильно зависит от содержания микроэлементов в рационах кормления, условиях хранения и переработки молока. Проводимые исследования по распределению микроэлементов между составными компонентами молока позволяют сделать вывод, что Al, Cu, Mn, Mo, Ni, Ti, Zn, Se, J связаны в основном с белками молока, а с жировой фазой – бор. Часть этих

элементов связаны с оболочками жировых шариков. Кроме этого установлено, что естественные микроэлементы (то есть поступающие в молоко из молочной железы) и внесенные (попавшие в молоко с поверхности тары, оборудования) распределяются между составными компонентами молока по-разному» [10,11,85].

Роль микроэлементов в молоке окончательно еще не изучена. Однако уже известно, что микроэлементы входят в состав многих ферментов и в зависимости от концентрации могут либо активизировать, либо ингибировать их действие. Находясь во взаимосвязи с ферментами, микроэлементы оказывают влияние на протекание биохимических реакций в молоке и на изменения составных компонентов молока в процессе хранения и переработки [11,68,84,85,136].

Из анализа научной литературы определили, что: «Содержание наиболее важных микроэлементов в коровьем молоке составляет (в мг%): меди - 0,02 – 0,08, железа - 0,04 - 0,2, марганца - 0,015 - 0,007, цинка - 0,05 - 0,2, молибдена – 0,0013 - 0,0015, кобальта - 0,025, серы - 30, свинца - 0,007 - 0,02, кремния - 0,02 - 0,07, алюминия – 0,07 - 1,3, йода – 0,002 - 0,008» [11,85,136,137,146].

В научных статьях и литературе пишут, что: «Микроэлементы влияют на пищевую ценность и качество молока и молочных продуктов. Следует отметить, что коровье молоко при высокой пищевой ценности содержит мало железа и меди, поэтому при производстве сухих молочных продуктов детского питания в молочную основу добавляют глицерофосфат железа, сульфат меди и другие соли. Молочнокислые бактерии, входящие в состав бактериальных заквасок, чувствительны к содержанию некоторых микроэлементов в молоке (Mn, Fe, Co, Zn и др.)» [11,85,136,137,146].

Микроэлементы могут попадать в молоко дополнительно после дойки (из воды, оборудования, тары и т. д.), в таком случае они отрицательно влияют на качество молочных продуктов. Так, повышенное содержание меди и железа приводит к появлению в молоке окисленного привкуса, что может привести к ускорению процессов прогоркания и осаливания масла. Увеличение количественного содержания в молоке свинца, кадмия, ртути может представлять угрозу для здоровья человека [11,85,136,137].

1.4 Основные структурно-механические характеристики молока и молочных продуктов

Структурно-механическими, или реологическими, согласно определению Косого В.Д., Дунченко Н.И. и др.: «называются механические свойства молока и молочных продуктов, проявляющиеся в процессе их деформации, течения и разрушения» [46,50,51,59,56,61]. Именно они определяют наиболее существенные аспекты технологического качества и поведения в различных процессах переработки молока – ввиду того, что сырьё растительного и животного происхождения при заготовке, транспортировании, хранении и переработке подвергается различным механическим воздействиям, напрямую связанным с деформированием или течением [46,51].

К основным структурно-механическим свойствам можно отнести пластическую и эффективную вязкость для вязко-пластичных систем и динамическую вязкость для структурированных жидкостей, напряжение и скорость сдвига, тиксотропию и реопексию [46,50,56,59,61,72,85].

Согласно авторам [46,50,56,61,72,85] вязкость каждой жидкости характеризуется некоторой величиной (η), называемой коэффициентом абсолютной вязкости, или динамическим коэффициентом вязкости, или коэффициентом внутреннего трения.

По определению Тёпела А. коэффициент внутреннего трения или вязкость – это та сила, которая требуется для сдвига относительно друг друга двух соседних слоев данной среды, расстояние между которыми составляет 1 м, с градиентом скорости 1 м/с [85].

За единицу измерения вязкости в Международной системе (СИ) принята единица измерений - паскаль-секунда (Па·с) [46,51,56,61,72,85].

По определению Косого В.Д. и др.: «Напряжение сдвига (τ) или деформации растяжения-сжатия представляют собой меру внутренних сил F, возникающих в теле под влиянием внешних воздействий. Численное значение напряжения – это

отношение силы F (Н) к площади поверхности А ($м^2$), единицей измерения которого служит паскаль (Па)» [46,51,59,85,72].

Скорость, с которой движутся верхняя пластина и прилегающие к ней слои жидкости относительно неподвижной пластины, характеризуется градиентом скорости или скоростью сдвига γ:

$$\gamma = dw/dn \ ,(c^{-1}) \qquad (3)$$

где dw – изменение скорости при переходе от одного слоя к другому, м/с; dn – расстояние, на котором происходит изменение скорости, м; dw/dn – градиент скорости, (γ, c^{-1}) [51,59,85,72].

Различают «ньютоновские» и «неньютоновские» жидкости. Ньютоновскими являются жидкости, вязкость которых не зависит от напряжения сдвига, т. е. является постоянным коэффициентом в законе внутреннего трения. Исходя из литературных источников [51,85,72,73], к ньютоновским жидкостям относятся: молоко сырое, молоко питьевое, молочная сыворотка, сливки жирностью до 25%, расплавленные сливочное масло и маргарин. Для «ньютоновских» жидкостей характерна идеальная вязкость – они подчиняются закону вязкости Ньютона. Это означает, что напряжение сдвига (τ) пропорционально скорости сдвига (γ) [51,85]:

$$\tau = \eta \cdot \gamma \ , \qquad (4)$$

где η– динамическая вязкость , Па·с.

При высоких скоростях сдвига некоторые ньютоновские жидкости могут проявлять свойства неньютоновских [9,46,51,59,85,72].

Реологические кривые для ньютоновских жидкостей, которые представляют собой графики зависимостей γ’ от τ или η от τ (рис.2) и отражают поведение жидкости в установившемся (стационарном) режиме деформирования [51,59,85].

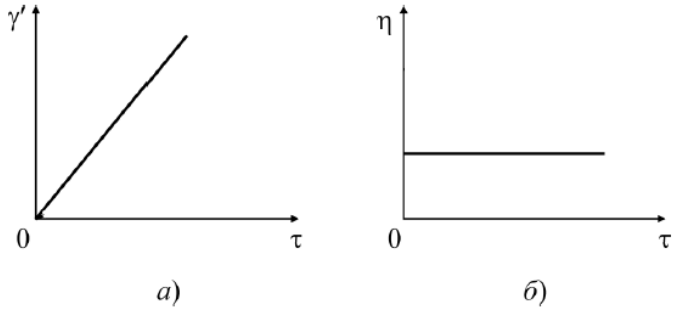


Рисунок 2 - Реологические кривые скорости сдвига (а) и вязкости (б)

Для неньютоновских жидкостей вязкость – функция скорости сдвига, поэтому её называют «кажущейся», или эффективной вязкостью $\eta_{ЭФ}$ (Па·с) [51,59,85]. Исходя из литературных источников [9,46,51,72,73,85], к неньютоновским жидкостям относятся: кисломолочные продукты (кефир, ряженка, простокваша, йогурты, сметана), сгущенные молочные консервы и др. Для неньютоновских жидкостей эффективная вязкость состоит из двух компонентов:

1) ньютоновской вязкости η, которая основана на внутреннем трении и представляет физическую константу материала;

2) структурного сопротивления, которое зависит от структурного состояния дисперсных систем и является функцией скорости сдвига γ [44,51,85].

У «неньютоновских» или нелинейных пищевых продуктов реологические свойства характеризуются более сложной зависимостью между скоростью течения и напряжением сдвига. Эту зависимость, как известно [9,51,72,85,], можно описать уравнениями (5) – (8):

- бингамовская пластическая жидкость $\tau = k \cdot \gamma^m + \tau_o$, $m = 1$ (5)
- псевдопластические пищевые продукты $\tau = k \cdot \gamma^m$, $m < 1$ (6)
- дилатантные пищевые продукты $\tau = k \cdot \gamma^m$, $m > 1$ (7)
- пластичность смешанного типа $\tau = k \cdot \gamma^m + \tau_o$, $m < 1$ (8)

где k – коэффициент консистенции,Па·с

m – показатель степени для течения жидкостей (характеризует степень «неньютоновской» жидкости),

τ_o – остаточное напряжение, Па.

Косой В.Д. в своих работах писал, что: «Структура молочных продуктов в процессе проведения измерений претерпевает изменения. Рассмотрим характеристики течения, которые зависят от длительности воздействия напряжения: тиксотропные и реопексные. Тиксотропным системам присуще восстановление структуры после разрушения и непрерывное ее разрушение при деформации до определённого предела (рис. 3 а,б). Реопексные системы способны структурироваться, т.е. образовывать контакты между частицами за счет ориентации или слабой турбулизации при механическом воздействии с небольшими градиентами скорости (рис. 3 а,в). По сравнению с тиксотропными они встречаются редко» [50,51].

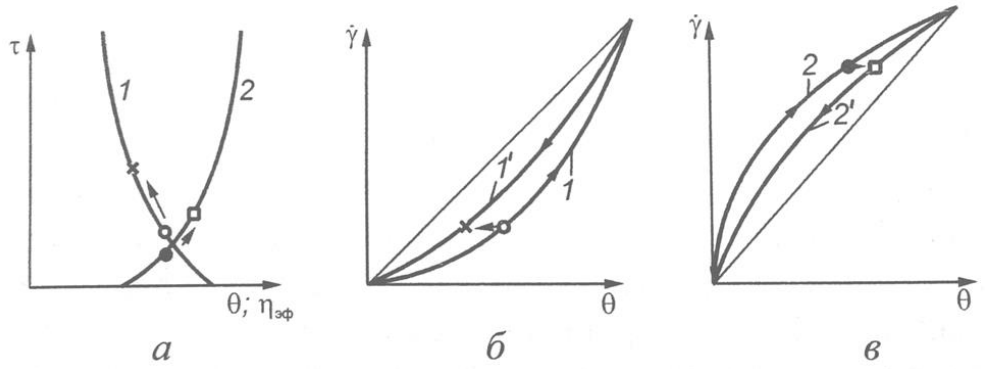


Рисунок 3 - Кривые течения, характеризующие: *а- зависимость напряжения сдвига и эффективной вязкости от длительности действия напряжения при постоянном градиенте скорости; для систем: 1 – тиксотропных; 2 – реопексных; б- кривые течения тиксотропных систем: 1 – при нагрузке; 1' - при разгрузке; в- кривые течения реопексных систем: 2 – при нагрузке; 2' - при разгрузке*

Данные свойства формируют различные комбинации, образуя уникальные структурно-механические свойства каждого вида молочных продуктов. Также, в большой степени, структурно-механические свойства находятся под влиянием внешних факторов: температура, величина и характер действующего сдвига. По этой причине установление единого уравнения или закона, характеризующего реологические свойства молочных продуктов как отдельной группы, невозможно [44,46,50,51,72,73,85].

Park Y.W. в своих работах утверждает, что «вне зависимости от вида животного, в основном молочные белки ответственны за структурно-механические свойства молочных продуктов. В молоке вязкость зависит от состояния и концентрации жира, белка, температуры, pH, и времени хранения молока». По данным Park Y.W. средняя вязкость козьего молока составила $2{,}12 \cdot 10^{-3}$ Па·с, для овечьего - $2{,}48 \cdot 10^{-3}$ Па·с, для верблюжьего – $2{,}8 \cdot 10^{-3}$ Па·с, для буйволиного - $2{,}2 \cdot 10^{-3}$ Па·с и коровьего - $1{,}7 \cdot 10^{-3}$ Па·с [139]. Горбатова К.К и другие авторы приводят данные, что в среднем, вязкость коровьего молока при 20˚С равна $1{,}8 \cdot 10^{-3}$ Па·с с возможными диапазонами колебаний от $1{,}3 \cdot 10^{-3}$ до $2{,}2 \cdot 10^{-3}$ Па·с [1,10,11,50,51,72,85,128].

В работе Spreer E. изучено влияние температуры на значение вязкости коровьего молока в зависимости от содержания жира, где установлено, что при 5˚С вязкость составляет $2{,}96 \cdot 10^{-3}$ Па·с (обезжиренное молоко) и $3{,}25 \cdot 10^{-3}$ Па·с (цельное молоко), в то время как при 20˚С диапазоны для обезжиренного и цельного молока составляют соответственно $1{,}79 \cdot 10^{-3}$ Па·с и $1{,}3 \cdot 10^{-3}$ Па·с [146]. Чем ниже температура молока и скорость сдвига, тем сильнее проявляется структурная вязкость, что вероятно обусловлено образованием скоплений жировых шариков и концентрировании жира [51,85,128].

С точки зрения реологии, кисломолочные продукты (кефир, простокваша, йогурты и др.) относятся к неньютоновским, реологически неустойчивым, псевдопластичным жидкостям [140]. По определению В.Д. Косого псевдопластичные жидкости – это жидкости, у которых эффективная вязкость с увеличением градиента скорости изменяется достаточно быстро [50,51].

Jumah R.Y и другие соавторы определили, что структурно-механические характеристики йогурта и других кисломолочных продуктов зависят от некоторых технологических факторов, в том числе от интенсивности тепловой обработки молока, денатурации сывороточных белков, механических воздействий на молочно-белковый сгусток, специфических свойств заквасочных культур и добавления стабилизаторов [124]. Также эффективная вязкость кисломолочных продуктов зависит от температуры, содержания жира и кислотности [11,50,51,85].

Согласно исследованиям Арета В.А и других авторов, вязкость кисломолочных продуктов зависит от вида закваски, наличия стабилизатора и его состава, разрушенности структуры и ряда других параметров. Аретом В.А. были получены ориентировочные значения коэффициента динамической вязкости для кисломолочных продуктов: сметана жирностью 20% - $\eta \cdot 10^{-3}$= 22-84 Па·с; кефир нежирный - $\eta \cdot 10^{-3}$= 10-16 Па·с; простокваша - $\eta \cdot 10^{-3}$= 9,5-13 Па·с [1].

1.5 Требования к молоку сырому

Основным видом перерабатываемого сырья является молоко сырое. Поступающее на производство молоко сырое прежде всего должно соответствовать требованиям Технического регламента Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (далее – ТР ТС 033/2013), а также национальным и межгосударственным стандартам, включенные в перечень стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований ТР ТС 033/2013.

По определению ТР ТС 033/2013: «сырое молоко - молоко, не подвергавшееся термической обработке при температуре более 40°С или обработке, в результате которой изменяются его составные части» [88]. Молоко должно быть получено от здоровых животных, в хозяйствах, благополучных по инфекционным и другим заболеваниям, общих для человека и животных[88,89].

Проведя анализ литературных данных и обобщение нормативной документации, основными показателями идентификации сырого молока коровьего являются массовая доля жира, массовая доля белка, массовая доля сухих обезжиренных веществ молока, кислотность, плотность и температура замерзания, которые отвечают за безопасность и качество молока и молочных продуктов [30,31,88,100].

В таблице 7 представлены основные показатели контроля молока коровьего сырого. Согласно Изменению 2 к ГОСТ Р 52054-2003 «Молоко коровье сырое. Технические условия» в зависимости от физико-химических и

микробиологических показателей молоко подразделяют на сорта: высший, первый и второй [30]. Также в таблице 7 представлены такие показатели как содержание небелкового азота, мочевины и массовой доли истинного белка, которые в 2017 году были введены впервые. Контроль этих показателей не является обязательным и проводится по усмотрению производителя [30].

Таблица 7 – Показатели идентификации сырого молока коровьего [30,31,88]

Наименование показателя	Параметры	
	ГОСТ Р 52054-2003 ГОСТ 31449-2013	ТР ТС 033/2013
Массовая доля жира, %, не менее	2,8	2,8
Массовая доля белка,%, не менее	2,8	2,8
Массовая доля СОМО,%, не менее	8,2	8,2
Кислотность,˚Т	16,0-21,0	16,0-21,0
Плотность, кг/м^3, не менее	1027,0-1028,0	1027,0
Температура замерзания, ˚С	не выше минус 0,520	не выше минус 0,505
Содержание небелкового азота,% не более	0,038	-
Содержание мочевины, мг%, не более	40,0	-
Массовая доля истинного белка, %, не менее	2,6-2,8	-
Содержание соматических клеток в 1 см^3, не более	$2{,}5\cdot10^5$-$7{,}5\cdot10^5$	$7{,}5\cdot10^5$

Также согласно ТР ТС 033/2013, основными критериями, установленными в данном документе, являются следующие показатели:

- микробиологические показатели (КМАФАнМ, соматические клетки и т.д.);
- показатели безопасности (наличие тяжелых металлов, радионуклеидов и т.д.);
- наличие антибиотиков, нейтрализующих веществ, консервирующих и ингибирующих веществ;
- органолептические показатели [88].

По сравнению с коровьим молоком в козьем и овечьем молоке не регламентируется содержание небелкового азота, мочевины, истинного белка, а также отсутствует установленное значение температуры замерзания. В таблице 8 приведены показатели идентификации козьего и овечьего молока в соответствии с нормативной документацией.

Таблица 8 - Показатели идентификации козьего и овечьего сырого молока [32,88]

Наименование показателя	Параметры		
	козье молоко		овечье молоко
	ГОСТ 32940-2014	ТР ТС 033/2013	ТР ТС 033/2013
Массовая доля жира, %, не менее	3,2	2,5	6,2
Массовая доля белка,%, не менее	2,8	2,8	5,1
Массовая доля СОМО,%, не менее	8,2	-	-
Кислотность,˚Т	14,0-21,0	13,0-24,0	25,0
Плотность, кг/м^3, не менее	1027,0-1030,0	1027,0-1030,0	1034,0
Содержание соматических клеток в 1 см^3, не более	$1{,}0 \cdot 10^6$	-	-

Содержание белка в молоке является основным идетентификацонным параметром определяющим стоимость молока, что привело к увеличению различных видов фальсификаций составных частей белка молока. В ТР ТС 033/2013 чётко определены нормы содержания массовой доли белка для молочных продуктов и молока сырого [58,83,88,104].

Необходимо отметить, что при наличии фальсификации молока сырого особое место для анализа белкового состава молочного сырья отводится идентификации. Под фальсификацией молока сырья подразумевается не только внесение различных компонентов, в том числе и немолочных, и химических соединений для придания определенных свойств и характеристик молоку, но и изменение его сортности и стоимости [58,64,104].

Контроль качества молока сырого после доения сельскохозяйственных животных в соответствии с ТР ТС 033/2013 должно быть очищено и охлаждено до температуры 4°С ± 2°С в течение не более 2 ч [8,88].

Согласно нормативной документации: «До начала промышленной переработки допускается хранение сырого молока (включая период хранения сырого молока, используемого для сепарирования) при температуре 4°С ± 2°С, не более 36 ч. (включая время перевозки).

До начала промышленной переработки допускается хранение сырого молока, сырого обезжиренного молока (включая период хранения сырого молока, используемого для сепарирования), сырых сливок, предназначенных для

изготовления продуктов детского питания для детей раннего возраста, при температуре 4°С ± 2°С не более 24 ч. (включая время перевозки)» [43,64,80,81,88].

В таблице 9 приведены данные физико-химических показателей в сыром молоке коровьем согласно литературным данным и установленным требованиям[2,5,6,10,11,30,31,58,60,68,69,70,74,78,84,85,88,95,96,104,136,144].

Таблица 9 - Белковый состав и физико-химические показатели молока сырого

Наименование показателя	Молоко коровье сырое
Массовая доля общего белка, %	2,8-4,0
Содержание сывороточных белков, %	0,4-0,7
Содержание казеиновых белков, %	2,6-3,9
Содержание общего азота, %	0,430-0,630
Содержание небелкового азота, %	0,020-0,038
Массовая доля жира,%	3,0-6,0
Массовая доля влаги, %	87,0-89,0
Массовая доля сухих веществ, %	11,0-14,0
Массовая доля СОМО, %	8,0-9,0
Массовая доля лактозы, %	4,0-5,6
Кислотность, ˚Т	15-21
Активная кислотность (величина pH), ед	6,0-6,7
Плотность, кг/м^3	1024-1040
Температура замерзания, ºС	-0,505 …- 0,575
Содержание мочевины, мг%	30,0-40,0
Содержание кальция, мг/100г	118-134
Содержание фосфора, мг/100 г	70-95

Исходя из анализа литературного поиска, делаем вывод, что на сегодняшний день недостаточно информации о белковом составе молока сырого. Отмечено, что по содержанию сывороточных белков, небелкового азота, содержанию кальция и фосфора нет четко обоснованных данных по сезонным колебаниям диапазонов содержания, влиянию продолжительности хранения на значения солевого и белкового состава молока сырого. Недостаточно критериев идентификации молока сырого, установленных либо в нормативных документах, либо в производственном контроле предприятий.

Наличие только показателей идентификации, представленных в нормативной документации, не дает полную оценку состава сырого молока и не позволяет дифференцировать сырье по качеству, поэтому появилась необходимость в расширении измеряемых параметров и в разработке методик их

определения. В первую очередь, по содержанию сывороточных белков и небелкового азота.

1.6 Методы исследований белкового состава молока сырого

Оценка белка и его фракционного состава является важной аналитической задачей, для выполнения которой, на сегодня, известно множество методов и средств контроля. Недооценка влияния состава молочного сырья и его особенностей на качество готового продукта приводит к снижению качества и пищевой ценности готовой молочной продукции.

В настоящее время известны следующие методы определения массовой доли общего белка и его фракционного состава.

Метод Кьельдаля. Впервые метод Кьельдаля был разработан в 1883 году пивоваром Иоганном Кьельдалем [52]. Согласно ГОСТ 23327-98: «Метод основан на минерализации органического вещества анализируемой пробы продукта концентрированной серной кислотой в присутствии катализатора с образованием сернокислого аммония, переведении его в аммиак, отгонке последнего в раствор борной кислоты, количественном учете аммиака титриметрическим методом и расчете массовой доли белка в анализируемой пробе. В таком виде метод используется и на сегодняшний день, хотя существует ряд усовершенствований для ускорения процесса и получения более точных данных» [15].

Данный метод считается основным арбитражным методом определения белкового состава молока и молочных продуктов. Метод Кьельдаля можно разделить на три этапа: минерализация, нейтрализация и титрование [52,102].

<u>Минерализация.</u> Для превращения органического азота в аммонийную соль используется метод мокрого озоления (минерализация) исходного продукта концентрированной серной кислотой. В литературных источниках описывается, что: «При разложении любого азота в продукте (кроме азота, который находится в виде нитратов или нитритов) образуется аммиак, который в растворе сильной

серной кислоты связывается в ион аммония (NH_4^+) и, следовательно, остается в растворе:

Органический N + H_2SO_4= $(NH_4)_2SO_4$ + H_2O + CO_2 + и др.

Нейтрализация. После минерализации содержимое колбы количественно переносят в специальную колбу для отгонки, добавляют щелочь и отгоняют выделяющийся аммиак. Общий вид реакции будет следующим:

$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH = Na_2SO_4 + 2NH_3 + 2H_2O$

Газообразный аммиак, улавливается в отдельной колбе с избытком раствора борной кислоты. Низкий pH раствора в колбе способствует переходу газообразного аммиака в ион аммония, и одновременно преобразует борную кислоту в борат ион. Общий вид реакции будет следующим:

$NH_3 + H_3BO_3 = NH_4 + H_2\ BO_3$

Титрование. Содержание азота рассчитывается по данным титрования. Борат ионы титруют соляной кислотой, используя подходящий индикатор для определения конечной точки реакции» [43,47,55,52,104].

$H_2BO_3^- + H^+ => H_3BO_3$

Метод Дюма. Данный метод является альтернативой методу Кьельдаля в сфере определения содержания общего азота и белка в продуктах. Метод основан на «превращении пробы в газы нагреванием в трубке для сжигания. Мешающие компоненты удаляют из полученной газовой смеси. Соединения азота в газовой смеси преобразуют в молекулярный азот, который определяют количественно с помощью детектора по теплопроводности. Содержание азота затем рассчитывают с помощью микропроцессора» [35,71].

Колориметрический метод (Метод Лоури). Метод основан на «способности белков молока при pH ниже изоэлектрической точки связывать кислый краситель, образуя с ним нерастворимый осадок, после удаления которого, измеряют оптическую плотность исходного раствора красителя относительно полученного раствора, которая уменьшается пропорционально массовой доле белка» [34].

Согласно литературным источникам: «Метод Лоури объединяет биуретовый реагент с другим (реагент Фолина), последний реагирует с остатками тирозина и триптофа в белках. Это дает синеватый цвет, который имеет область поглощения в диапазоне между 500 – 750 нм в зависимости от того, какая требуется чувствительность определения. Существует небольшой пик поглощения при длине волны 500 нм, который может быть использован для определения высоких концентраций белка и интенсивный пик - около 750 нм, который может быть использован для определения низких концентраций белка. Этот метод является более чувствительным к низкому содержанию белков в измеряемых образцах, чем просто метод измерений с биуретовым реактивом» [52, 55, 71,75].

Методы со связыванием красителя. В лабораторном практикуме Охрименко О.В. и др. литературных источниках описывается сущность метода, которая заключается в «добавлении «отрицательно заряженного» красителя в раствор белка, pH которого регулируется так, чтобы белок находился в «положительно заряженной» области (т.е. меньше изоэлектрической точки). При этом белки образуют нерастворимый комплекс с красителем из-за электростатического притяжения между молекулами, а несвязанный краситель остается в растворе. Отрицательно заряженная часть красителя связывается с катионными группами основных аминокислот (гистидина, лизина и аргинина) и любыми свободными аминогруппами. Количество несвязанного красителя, остающегося в растворе, после того как нерастворимый комплекс «белок-краситель» удаляется (например, центрифугированием) определяется при измерении его поглощения на соответствующей длине волны. Количество белка, которое присутствовало в исходном растворе пропорционально количеству красителя, добавленному первоначально и оставшемуся в растворе. Оптическая плотность фильтрата уменьшается с увеличением массовой доли белка» [8,52,71].

Оптическую плотность фильтрата определяют с применением фотоколориметра при длине волны 590 нм [71].

Метод формольного титрования. Согласно описанию ГОСТ 25179: «Метод формольного титрования основан на нейтрализации карбоксильных групп моноаминодикарбоновых кислот белка раствором гидроксида натрия, количество которого, затраченное на нейтрализацию, пропорционально массовой доле белка в молоке» [34].

В методе формольного титрования массовую долю белка в молоке определяют по количеству ионизированных аминных групп, находящихся на поверхности мицелл казеина и молекул сывороточных белков [71,98,102].

«Предел допустимой погрешности результата измерений в диапазоне массовой доли белка 2,2 - 4,0% составляет ± 0,15%» [54,81,102].

Рефрактометрический метод. В соответствии с описанием ГОСТ 25179: «Метод основан на измерении показателей преломления молока и безбелковой молочной сыворотки, полученной из того же образца молока, разность между которыми прямо пропорциональна массовой доле белка в молоке» [34].

Основной прибор – рефрактометр типа АМ-2 или ИРФ-464 со шкалой массовой доли белка в диапазоне 0 – 15%, ценой деления 0,1% [64,71]. Предел допустимой погрешности результата измерений составляет ± 0,1% массовой доли белка [64,71,75].

Все более широкое применение в производственном контроле находят распространение такие методы как: инфракрасная спектроскопия (ИКС), газовая хроматография, жидкостная хроматография (различные варианты), хромато-масс- спектрометрия, атомно-адсорбционная спектрометрия, фотометрия, капиллярный электрофорез, гель-фильтрация, эксклюзивная хроматография и другие высокоточные методы. Данные методы используются для идентификации белкового состава молока и молочных продуктов.

Метод инфракрасной спектроскопии. Инфракрасная спектроскопия – это метод анализа химических соединений, при котором поглощается энергия в пределах инфракрасного излучения (теплового) [75,103]. По ГОСТ 32255-2013: «Метод основан на измерении интенсивности оптического излучения, отраженного от исследуемого образца или поглощенного исследуемым образцом

в инфракрасном диапазоне длин волн от 0,4 до 11,0 мкм и последующем пересчете полученной интенсивности в значения массовой доли белка, жира, лактозы, влаги и сухих веществ с помощью градуировочных моделей, полученных по набору образцов с известными значениями этих физико-химических показателей, установленных стандартизованными методами» [39].

Границы допустимой погрешности результата измерений в зависимости от вида продукта составляет ± 0,09 - 0,12% [52,39,71].

Электрофоретический метод в полиакриламидном геле (ПААГ-геле). Согласно определению ряда авторов: «Электрофорез - метод разделения веществ, основанный на явлении миграции заряженных молекул под действием внешнего электрического поля» [36,49,62].

В случае, когда требуется фракционировать белки исключительно по молекулярной массе, применяют метод электрофореза ПААГе в денатурирующих условиях. Такая система была разработана У. К. Лэммли [90]

Согласно национальному и межгосударственному [36,37] стандартам сущность метода заключается в определении состава белка. «Находящиеся в буферном растворе (ПААГ геле) макромолекулы белков обладают некоторым суммарным электрическим зарядом, величина и знак которого зависят от pH среды. При пропускании электрического тока вдоль геля, устанавливается определенный градиент напряжения, т.е. формируется электрическое поле. Под действием этого поля макромолекулы белков в соответствии со своим зарядом мигрируют в направлении катода или анода. Исследуемая проба, состоящая из различных молекул, разделяется на зоны молекул с одинаковой молекулярной массой и зарядом, мигрирующих с одной и той же скоростью. Со временем эти зоны распределяются по длине геля в виде полос и закрепляются» [36,37].

Метод капиллярного электрофореза (КЭФ) основан на разделении сложных смесей компонентов в кварцевом капилляре при приложении к нему электрического напряжения. Для определения показателей качества белковых препаратов используют два основных метода - капиллярный гель-электрофорез (КГЭ, англ. CGE) и капиллярное изоэлектрическое фокусирование (КИЭФ, англ.

CIEF). Первый метод применяют для разделения белков с разной молекулярной массой, второй – для разделения белков с примерно одинаковой молекулярной массой, но с различными изоэлектрическими точками (разделение изоформ с разным зарядом) [38,49,62,103].

В методе капиллярного гель-электрофореза используют капилляр, заполненный буфером с полимерными добавками. Перед анализом образец белка денатурируют нагреванием в присутствии додецилсульфата натрия (SDS) в редуцирующих (с восстанавливающим агентом) или в нередуцирующих условиях. После быстрого охлаждения образец вводят в капилляр, прикладывают высокое напряжение, и белки начинают двигаться сквозь полимерный буферный раствор. Как и в классическом гель-электрофорезе разделение достигается за счет различий в молекулярных массах (т.н. ситовой эффект) [49,103]. Метод позволяет разделять белки, отличающиеся по массам на 4 % и более (рисунок 4).

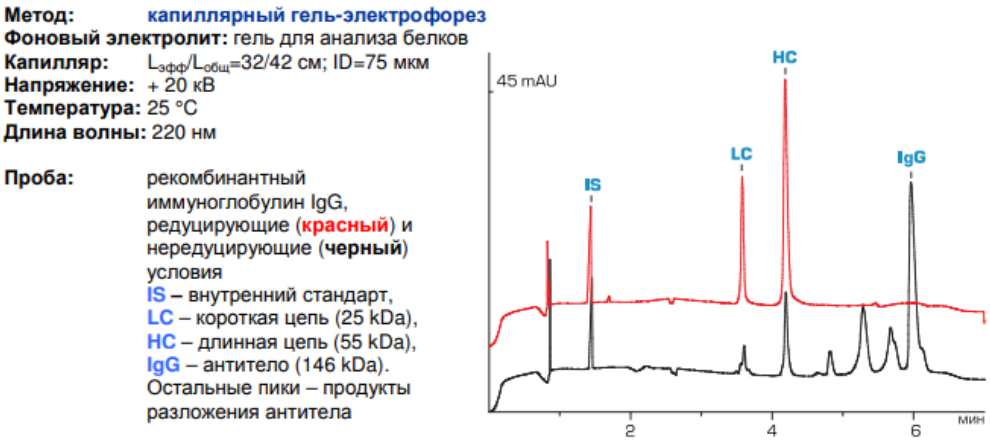


Рисунок 4 – Электрофореграмма капиллярный гель-электрофорез [49]

В методе капиллярного изоэлектрического фокусирования капилляр заполняют смесью буферного раствора, амфолитов и пробы (рисунок 5). На первом этапе (фокусировка), прикладывают высокое напряжение, в результате чего в капилляре возникает градиент pH, и молекулы белка в соответствии со своими изоэлектрическими точками (ИЭТ) фокусируются в узкие зоны, в которых они теряют заряд и электрофоретическую подвижность. На втором этапе (мобилизация) выходную виалу заменяют на виалу с мобилизирующим раствором и снова прикладывают высокое напряжение, после чего сфокусированные зоны начинают двигаться к детектору. При помощи данного метода могут быть

разделены белки с изоэлектрическими точками, отличающимися на 0,04 единицы pI (изоэлектрическая точка) [49,103].

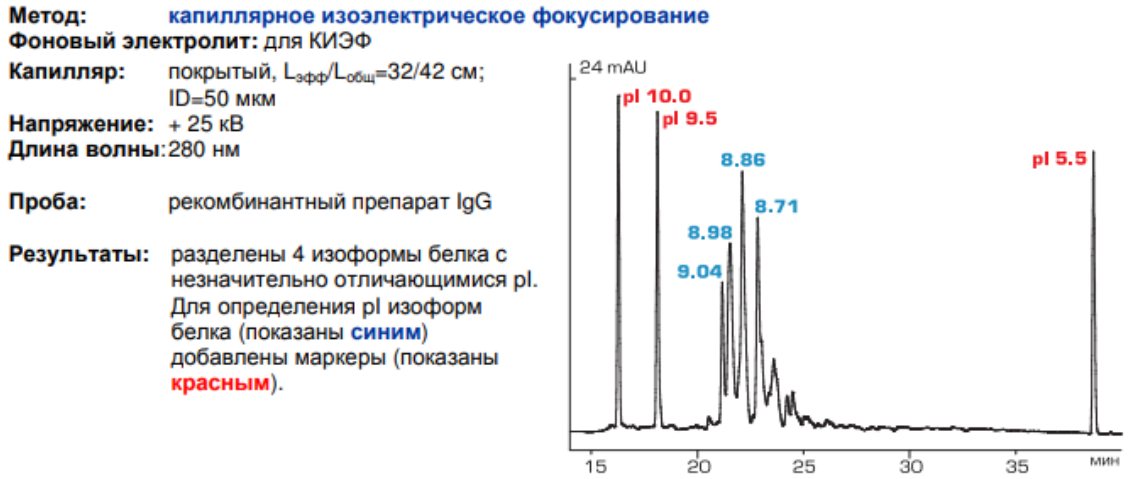


Рисунок 5 – Электрофореграмма капиллярного изоэлектрического фокусирования

Для обоих методов существует прямая пропорциональная зависимость логарифма молекулярной массы белков (в случае КГЭ) или изоэлектрической точки (в случае КИЭФ) от времени миграции. Это даёт возможность определять молекулярную массу или ИЭТ у неизвестных белков при использовании в анализе добавленных маркеров с заранее известными параметрами [49,75,103].

На основе капиллярного электрофореза определяют содержание соевого и горохового белков в молоке сухом в присутствии додецил сульфата (SDS-CE) по ГОСТ Р 52995-2008 [38].

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). По определению Бёккера Ю.: «Хроматографией называют физико-химический метод, основанный на различии скорости переноса растворенных веществ в системе двух фаз, одна из которых подвижна. Отличительной чертой хроматографического метода является разделение смеси веществ на основе распределения между двумя несмешивающимися фазами, одна из которых неподвижная, а другая – подвижная, непрерывно протекающая через неподвижную фазу. В роли подвижной фазы чаще всего выступает газ или жидкость, а в качестве неподвижной фазы – жидкость или твердое вещество» [4,66,90,103].

Из анализа литературного поиска определили, что: «Этот метод хроматографии позволяет проводить микроколичественный анализ веществ в

ультрамалых количествах и за короткое время с использованием высокочувствительных детекторов в микроколоночном варианте. Удобство и быстрота обработки аналитической информации, получаемой на хроматографах, обеспечивается вычислительным комплексом, укомплектованным пакетом программ широкого назначения. Метод широко применяется для анализа белков, производных аминокислот и других соединений» (рисунок 6) [4,66,90,103].

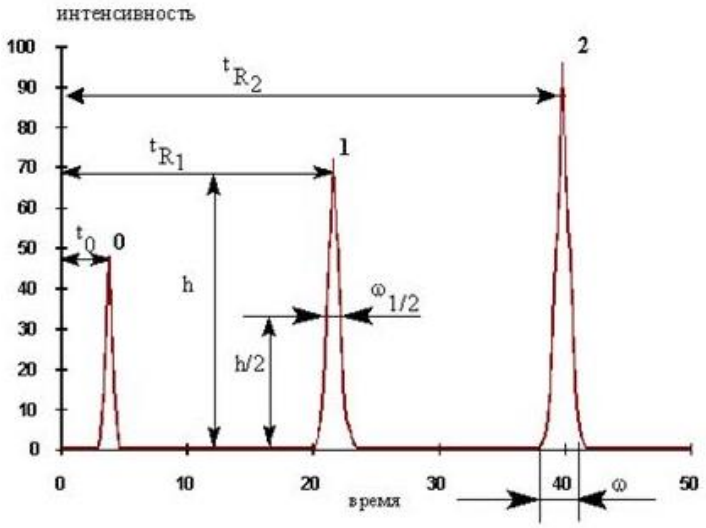


Рисунок 6 – Хроматограмма и ее основные характеристики

Метод масс-спектрометрии. Масс-спектрометрия – это способ изучения веществ, вычислением массы и числа ионов при ионизации вещества. О масс-спектрометрии, как о методе исследования биологических образцов, заговорили с появлением, так называемых, мягких методов ионизации: электрораспыление или электроспрей (ESI) [66,152] и лазерная десорбционная ионизация в присутствии матрицы (MALDI) [66,153]

В основе метода электрораспылительной ионизации лежит явление разрушения заряженной частицы жидкости, возникающее в процессе ее испарения в электростатическом поле высокой напряженности, когда силы отталкивания находящихся на ее поверхности зарядов превосходит силы поверхностного натяжения [66,103].

Можно выделить две основные методики, которые применяются для анализа белков с помощью масс-спектрометра. В первой масс-спектрометр используется для анализа пептидов и белков, разделенных двумерным гель-

электрофорезом. Пептиды и белки экстрагируют из геля и растворяют для анализа с помощью ESI или сокристаллизируют вместе с веществом матрицы в случае MALDI-источника. Разработаны и используются различные методы экстракции. Во второй методике капиллярный электрофорез или высокоэффективная жидкостная капиллярная хроматография служит для предварительного разделения смеси пептидов и белков, а масс-спектрометр с ESI-источником анализирует и идентифицирует продукты разделения в реальном времени [66,103].

На рисунке 7 представлены сигналы двух видов молекулярных ионов с их изотопными распределениями.

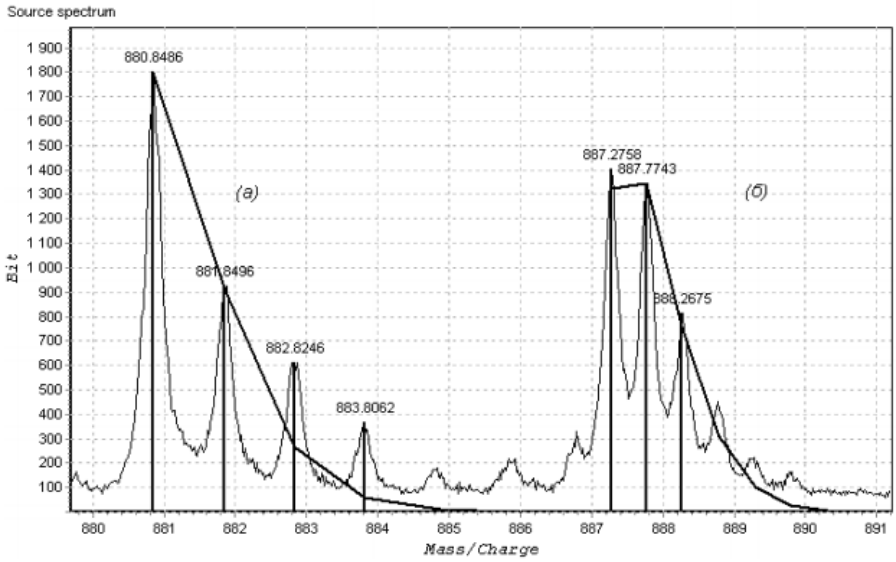


Рисунок 7 - Пример обработки исходных данных системы регистрации масс-спектрометра: (а) - изотопное распределение молекулярных масс однозарядного иона $[M+H^+]$ = 880,8486 Да; (б) - изотопное распределение молекулярных масс двузарядного иона $[M+2H^+]/2$ = 887,2758 Да [66]

В современное время для решения вопросов идентификации и определения белкового состава молочного сырья и молочных продуктов необходимо использовать методики измерений, базирующиеся на современных высокоэффективных методах анализа. Проведя литературный обзор и сравнив существующие методы определения белкового состава, пришли к выводу, что метод Кьельдаля универсален.

Выявили следующие преимущества и недостатки. Метод Кьельдаля широко используется в мире и до сих пор наравне со всеми другими методами. Обладает высокой точностью и хорошей воспроизводимостью, что и сделало его основным методом для оценки содержания белка в пищевых продуктах. В отличие от других методик определения белка не требует калибровки. Метод Кьельдаля трудоемок и требует значительного времени для его проведения. В настоящее время для снижения трудоемкости, времени и минимизации случайных ошибок разработаны системы различной степени автоматизации для выполнения всех описанных выше стадий анализа. Использование именно этого метода анализа гарантирует достоверность результатов, в то время как предложенное приборное решение позволяет существенно увеличить воспроизводимость, снизить расход реактивов и обеспечить безопасность персонала.

Современные методы исследований позволяют не только измерять необходимые показатели, но и выявлять фальсификацию, что очень актуально при входном контроле молочного сырья.

1.7 Влияние технологических факторов переработки на белковый состав молока

Влияние тепловой обработки на белковый состав молока. Согласно работам ряда авторов: «Тепловую обработку молока (пастеризацию, ультравысокотемпературную обработку (УВТ-обработку), стерилизацию) проводят с целью обеспечения соответствия вырабатываемых продуктов санитарно-гигиеническим требованиям и повышения стойкости их при хранении. При тепловой обработке происходят изменения составных компонентов молока, его физико-химических, органолептических и технологических свойств. Степень этих изменений зависит от температуры и продолжительности ее воздействия на молоко. Поэтому при всех видах тепловой обработки стремятся максимально

сохранить исходные свойства молока, его пищевую и биологическую ценность» [11,53,68,84,85].

Сложный состав молока и его физико-химическое равновесие всех компонентов наряду с различной тепловой обработкой затрудняет представление всех изменений, возникающих в молоке [84,85,107,136]:

- разложение лактозы на органические кислоты и образование лактулозы, денатурация сывороточных белков, разрушение некоторых витаминов и ферментов, гидролиз белков и липидов, нарушение равновесия кальция и фосфора;

- формирование новых соединений, в основном вызванных реакциями Майара, которые приводят к постороннему запаху и потере питательной ценности. Реакции Майара продолжаются при хранении термообработанного молока.

Согласно литературным источникам было установлено, что: «последствия влияния тепловой обработки на составные части молока не всегда желательны. Например, в производстве сычужных сыров денатурация сывороточных белков и снижение содержания ионизированного кальция в молоке после тепловой обработки отрицательно влияет на процессы сычужного свертывания, обработку сгустка и качество готового продукта. В производстве кисломолочных напитков, напротив, денатурация сывороточных белков, их последующее взаимодействие с мицеллами казеина способствует повышению гидратационных свойств получаемых сгустков и предотвращает синерезис» [3,11,53,84,85,136].

В зависимости от интенсивности и продолжительности нагревания происходит частичная или полная денатурация белков (рисунок 8). Согласно литературным источникам установлено, что: «Вследствие разрыва водородных и ковалентных связей с незначительной энергией происходят конформационные изменения белка в молоке – нарушение их вторичной и третичной структуры, в результате чего компактно свернутая молекула превращается в беспорядочный клубок. Развертывание α-спиральных участков молекулы приводит к высвобождению функциональных групп: сульфгидрильных (-SH), гидроксильных

(-OH), аминогрупп (-NH_2) и др. Вследствие реакционной способности этих групп денатурированные белки могут взаимодействовать между собой и с казеиновыми фракциями. Денатурированный β-лактоглобулин образует комплексы с α-лактальбумином, которые взаимодействуют с к-казеином. Образование комплексов сывороточных белков с к-казеином резко меняет поверхностные свойства казеиновых мицелл: усиливает гидратационные свойства, ухудшает способность свертываться под действием сычужного фермента, снижает термоустойчивость белков казеина» [3,11,53,84,85,105,119].

Научно доказано, что: «С высвобождением сульфгидрильных групп при нагревании молока связано появление вкуса кипяченого молока, усиление антиокислительных свойств и понижение окислительно-восстановительного потенциала. Основным источником SH-групп является β-лактоглобулин. Денатурация сывороточных белков сопровождается частичной или полной потерей коллоидной растворимости» [3,11,53,84,85,105,119].

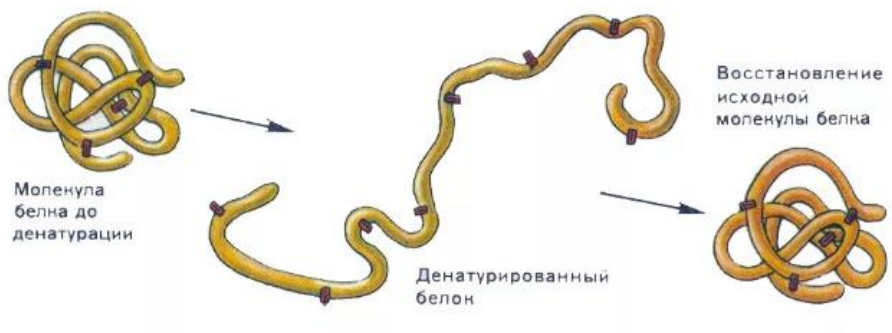


Рисунок 8 - Денатурация белка молока

Тёпел А. и др. ученые доказали, что: «Чувствительность к нагреванию отдельных фракций сывороточных белков различна. Наименее устойчивыми к нагреванию являются иммунные глобулины, затем альбумины сыворотки крови, более устойчивы β-лактоглобулин и α-лактальбумин. Протеозо-пептоны – самая термостабильная фракция сывороточных белков» [3,11,84,85,119,135,136].

«Сывороточные белки денатурируют полностью при нагревании до 90˚С (5мин) или 76˚С (60 мин). Фракции сывороточных белков имеют различную термоустойчивость, так β-лактоглобулин начинает денатурировать при 70˚С, α-

лактальбумин – 72 ˚С, альбумин сыворотки крови – 64 ˚С, иммуноглобулины – 60˚С. Степень денатурации зависит не только от температуры, но и от продолжительности ее воздействия» [3,11,57,84,85,119,135,136].

Согласно анализу научных статей и работ определили, что: «Особую значимость для практической обработки и переработки молока имеют следующие изменения, связанные с тепловой денатурацией сывороточных белков:

- снижение окислительно-восстановительного потенциала при одновременном усилении антиокислительных свойств;

- возникновение привкуса кипячения;

- снижение способности к свертыванию под действием сычужного фермента и прочности сгустка, что отрицательно сказывается на отделении сыворотки и последующем процессе созревания сыра;

- усиление гидратационных свойств кислотных сгустков в производстве кисломолочных диетических напитков» [3,11,53,84,85,105,119].

В отличие от других глобулярных белков «казеин является термоустойчивым белком. Его коагуляция наступает при выдержке молока, нагретого до 120 - 130˚С, в течение от 2 до 88 минут. Тепловая стабильность казеина зависит от концентрации ионов кальция в молоке, величины pH и денатурированной части сывороточных белков» [11,68,84,85,95,136,144].

Однако «при тепловой обработке при высоких температурах (выше 100˚С) казеинаткальцийфосфатный комплекс (ККФК) претерпевает ряд физико-химических изменений. Вследствие гидролиза фосфатноэфирных связей происходит его дефосфорилирование с удалением из α_{s1}-, α_{s2}- и β-казеинов части органического фосфора, в результате чего снижается суммарный отрицательный заряд казеиновых мицелл. После дефосфорилирования ухудшается способность казеина связывать кальций, часть его уходит из казеинатов кальция, наступает дестабилизация мицелл и снижается термоустойчивость» [11,68,84,85,144].

В литературных источниках изучено, что: «При нагревании молока выше 110˚С в результате гидролиза пептидных связей в к-казеине от него отщепляется гликомакропептид, выполняющий роль защитного коллоида мицелл, что может

вызвать тепловую коагуляцию белков. Кроме этого, на поверхности мицелл осаждается комплекс денатурированных β-лактоглобулина и α-лактальбумина, коллоидный фосфат кальция. В результате замедляется сычужное свертывание и изменяются структурно-механические и синергетические свойства сгустков (кислотного и сычужного) – усиливается степень гидратации сгустков» [11,57,68,84,85,144].

Согласно данным ряда авторов «термоустойчивость казеиновой фракции зависит от солевого равновесия в молоке, то есть при повышении содержания ионов кальция в плазме молока происходит их присоединение к ККФК, в результате чего уменьшается отрицательный заряд мицелл казеина, они агрегируются в крупные агрегаты и коагулируют при нагревании.

Термоустойчивость зависит и от размеров мицелл казеина, чем меньше размер мицелл, тем выше термоустойчивость, так как более мелкие мицеллы содержат больше к-казеина, обладающего высоким отрицательным зарядом и сильными гидрофильными свойствами» [3,11,53,84,85,105,119,136,144].

Что касается термоустойчивости ККФК, то она зависит от величины pH (накопление молочной кислоты). Переход коллоидного кальция в ионно-молекулярное состояние обусловливают коагуляцию казеина [67,85].

Рядом авторов отмечается, что «в процессе тепловой обработки, прежде всего, изменяется состав солей кальция. Часть гидро- и дигидрофосфатов кальция, находящихся в ионно-молекулярной форме, переходит в плохо растворимый фосфат кальция» [11,57,67,85,144]:

$$3CaHPO_4 \rightarrow Ca_3(PO_4)_2 + H_3PO_4$$

$$3Ca(H_2PO_4)_2 \rightarrow Ca_3(PO_4)_2 + 4H_3PO_4$$

Учеными установлено, что: «Образовавшийся фосфат кальция агрегирует в виде коллоида и осаждается на мицеллах казеина. При этом происходит необратимая минерализация ККФК, что приводит к нарушению его структуры и снижению термоустойчивости казеина. Часть фосфата кальция вместе с денатурированными сывороточными белками образует отложения на поверхности

оборудования, в частности на теплообменных аппаратах (молочный камень или пригар)» [63,67,85].

Очевидно, что «в результате тепловой обработки молока содержание в нем растворимого кальция снижается. Это снижение может достигать 50% в зависимости от вида и интенсивности тепловой обработки. Снижение растворимого кальция в молоке ухудшает его технологические свойства, в частности способность, свертываться под действием сычужного фермента. Поэтому при производстве творога, сыра в молоко после пастеризации вносят растворимые соли кальция для восстановления солевого баланса» [63,67,85].

Влияние баромембранной обработки на белковый состав молока. Согласно литературным источникам, мембранная обработка молочного сырья - это разделение или концентрирование растворов с помощью полупроницаемых мембран, осуществляемое на молекулярном и ионном уровнях [42,86]. Технологии баромембранной фильтрации нашли широкое применение в различных отраслях промышленности для очистки или концентрирования жидких сред. Молочная промышленность была одной из первых отраслей, в которой методы мембранной фильтрации стали широко использоваться для разделения жидких компонентов систем [45,86].

В работах Евдокимова Е.И. и др. говорится, что: «В зависимости от размера удерживаемых частиц мембранная фильтрация подразделяется на четыре типа:

- микрофильтрация (МФ) – тип фильтрации, который позволяет отделять частицы размером 0,05 – 10 мкм. В этот диапазон входят бактерии, жировые шарики молока и крупные мицеллы казеина;

- ультрафильтрация (УФ) позволяет отделить коллоидные частицы и высокомолекулярные вещества с линейными размерами 0,001 – 0,1 мкм или молекулярной массой 5000 – 500 000 Да. В этот диапазон попадают казеин и сывороточные белки;

- нанофильтрация (НФ) – тип фильтрации, отделяющей молекулы размером 0,0005 – 0,001 мкм (400 – 1000 Да). В эту группу попадают лактоза и другие ди- и моносахара, аминокислоты и минеральные соединения;

- обратный осмос (ОО) задерживает молекулы и ионы размером менее 0,0005 мкм или молекулярной массой меньше 400 Да, т.е. все компоненты молочного сырья, включая минеральные вещества» [42,45].

По проведенным исследованиям ряд авторов отмечает, что «мембранная обработка молока оказывает влияние на структуру и свойства белковых фракций и в первую очередь на структуру казеина и сывороточных белков. При этом структурные изменения белковой фазы зависят от продолжительности мембранной обработки, особенностей технологического процесса, а также от степени концентрирования молока» [42,45,86].

Анализ литературных источников определил, что: «При ультрафильтрационной обработке молока происходит частичная денатурация сывороточных белков (около 20%) и их ассоциация с казеином. При диафильтрации (повторной ультрафильтрации разбавленного водой белкового УФ-концентрата) степень денатурации сывороточных белков возрастает в 4-5 раз. Предположительно процесс денатурации белков при ультрафильтрации происходит на границе раздела фаз воздух – жидкость. Повышение степени денатурации белков при диафильтрации молока является следствием удаления из концентрата лактозы (при разбавлении водой), обладающей защитными свойствами по отношению к белкам» [42,45,86].

«Концентрирование обезжиренного молока в 2-3 раза с помощью его ультрафильтрационной обработки в производстве сычужных сыров и творога незначительно влияет на структурные изменения белковой фазы. Однако, при повышении степени концентрирования (в 5 и более раз) эти изменения отрицательно влияют на структурно-механические и синеретические свойства образующихся сгустков и приводят к потерям белка» [42,45,86].

Изучив литературу по данному вопросу, можно сделать вывод, что в области исследования влияния мембранной обработки состав и свойства молока сырого отсутствуют систематизированные данные по изменению его физико-химических свойств и оценке белкового и солевого состава.

ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Организация работы и схема проведения исследований

Экспериментальная часть работы была выполнена в ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» в лаборатории технохимического контроля и арбитражных методов анализа.

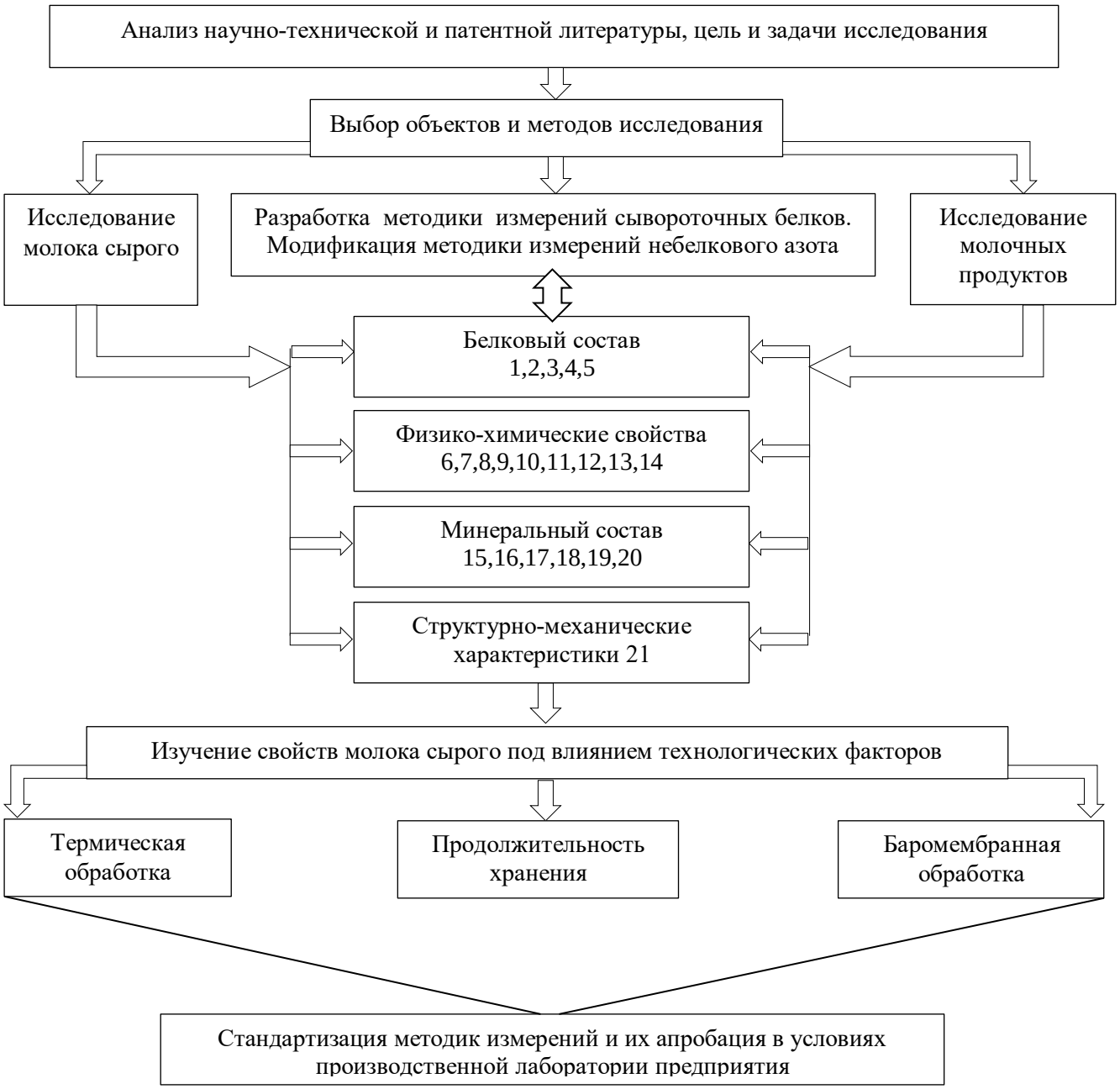
Пробы коровьего молока сырого для блока исследований настоящей работы отбирались на зоостанции РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, козьего молока сырого от коз зааненской, чешской и альпийской пород – из личного подсобного хозяйства Завацкой И.А., Московская область, д. Бреховка. Овечье молоко сырое отбиралось от овец романовской породы из фермерского хозяйства "Заповедь", Московская область, Шатурский район, д. Коробовская. Количество отобранных и исследованных проб составило:

- коровьего сырого молока более 650;
- козьего сырого молока – 200;
- овечьего сырого молока – 60.

Сформирована структура диссертационного исследования, в которой отражены основные направления исследований, последовательность их выполнения и решения поставленных задач. Схема проведения экспериментов представлена на рисунке 10.

2.2 Объекты исследований

Объектами исследований являлись: молоко сырое (коровье, козье, овечье), концентрированное молоко и молочные продукты (сливки питьевые, молоко питьевое, кисломолочные продукты, сыворотка, сухое молоко, сухая сыворотка).



Изучаемые показатели: 1 - содержание общего азота,%; 2 – массовая доля общего белка,%; 3 – содержание сывороточных белков,%; 4 - содержание небелкового азота,%; 5 – содержание казеиновых белков,%; 6 - массовая доля жира, %; 7 - массовая доля лактозы, %; 8 - массовая доля влаги, %; 9 - титруемая кислотность, °Т; 10 - активная кислотность, ед. pH; 11 - температура замерзания, °С; 12 - содержание мочевины, мг%; 13 - плотность, кг/м^3;14 – соматические клетки, тыс/см^3 ;15 – содержание кальция, мг/100г; 16 – содержание фосфора, мг/100г; 17 – содержание фосфатов, г/дм^3; 18 - содержание цитратов, г/дм^3; 19 – содержание хлоридов, г/дм^3; 20 - содержание сульфатов, г/дм^3; 21 – эффективная вязкость, Па·с

Рисунок 10 – Схема проведения исследований

2.3. Методы исследований

В ходе выполнения научно-исследовательской работы в качестве методов исследований применялись как общепринятые и стандартизованные методы контроля, так и метрологически аттестованные методики измерений (МИ) и методики, разработанные и модифицированные в ходе выполнения работы.

Исследования выполнялись с применением современного и высокоэффективного оборудования.

Измерения физико-химических показателей осуществляли по следующим стандартам:

- отбор проб и подготовка их к испытанию – ГОСТ 13928-84 [13];
- восстановление сухих молочных консервов – ГОСТ 29245-91 (п.3.4)[14];
- определение массовой доли белка – ГОСТ 23327-98, ГОСТ 34454-2018, ГОСТ 30648.2-99 [15,16,17];
- определение содержания казеинового азота – СТБ ISO 17997-1-2012 [18];
- определение массовой доли жира – ГОСТ 5867-90 [19];
- определение массовой доли влаги и сухого вещества – ГОСТ Р 54668-2011 [20];
- определение титруемой кислотности – ГОСТ Р 54669-2011[21];
- определение активной кислотности – ГОСТ 32892-2014 [22];
- определение содержания мочевины – ГОСТ Р 55282-2012 [23];
- определение массовой доли лактозы – ГОСТ Р 54667-2011 [24];
- определение температуры замерзания – ГОСТ 25101-2015 [25];
- определение соматических клеток – ГОСТ 23453-2014 [26];
- определение общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) - ГОСТ 32901-2014 [27];
- определение плотности – ГОСТ Р 54758-2011 [12];
- определение общего фосфора – ГОСТ 31980-2012[28];
- определение содержания фосфатов – ГОСТ 33500-2015 [29];
- определение массовой доли истинного белка – ГОСТ Р 52054-2003 [30].

Определение кальция осуществляли комплексометрическим методом по Дуденкову А.Я. Комплексонометрический метод (по Дуденкову А.Я.) основан на образовании устойчивого комплексона трилона Б (динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты) с двухвалентным кальцием. Комплексное соединение трилона Б настолько прочно связывает катионы кальция, что при его добавлении к молоку растворяются плохо растворимые соединения кальция с фосфором и белками. Если в молоко внести индикатор, образующий с ионами кальция окрашенные соединения, то при добавлении трилона Б в точке эквивалентности окраска индикатора изменится [47,71].

Метод позволяет контролировать не только массовую долю общего кальция в молоке, но и содержание в нём условно растворимого кальция, который остаётся в сыворотке после охлаждения белков молока трихлоруксусной кислотой [47,71].

Массовую концентрацию иона кальция рассчитывают по формуле [47]:

$$X = \frac{(V_1 - V_2)2 \cdot 0{,}97 \cdot 100}{V}, \qquad (9)$$

где V_1 – объём 0,1 н раствора трилона Б, добавляемого к молоку (3,5 мл + количество израсходованное на второе титрование), мл;

V_2 - объём 0,1 н раствора хлорида кальция, израсходованного на обратное титрование трилона Б, мл;

V – объём молока, взятого для определения, мл;

2 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора трилона Б, мг;

0,97 – коэффициент для пересчёта количества молей из мл в гр. [47];

Определение эффективной вязкости осуществляли вискозиметрическим методом с применением ротационного вискозиметра DV-II+Pro (фирмы Brookfield, США).

Для проведения измерений использовали широкий химический стакан объемом на 400 мл. Исследуемый образец перед измерением эффективной вязкости нельзя подвергать какому-либо механическому воздействию, чтобы не образовались пузырьки воздуха и не нарушить структуру сгустка. Емкость с

образцом помещали в водяную баню (ТС-550) при температуре (20±2)ºС, выдерживали 10 мин для равномерного прогрева и проводили измерение в течение 1-7 мин.

Для измерения эффективной вязкости сырого молока использовали шпиндель LV61 с диапазоном 15 - 20Т мПа·с. Оптимальным режимом скорости вращения шпинделя для коровьего и козьего молока были установлены 10 $с^{-1}$, для овечьего молока – 15 $с^{-1}$.

При измерении эффективной вязкости молочных продуктов использовали шпиндель LV62 с диапазоном 50 - 100Т мПа·с. Оптимальным режимом скорости вращения шпинделя для йогурта питьевого установили 10 $с^{-1}$.

Для получения точных и корректных результатов измерений крутящий момент должен быть в диапазоне 32 - 60%.

Определение содержания хлоридов, сульфатов, цитратов осуществляли методом капиллярного электрофореза на системе для капиллярного электрофореза фирмы «BeckmanCoulter» (США).

Во время проведения исследований были оптимизированы режимы и параметры КЭФ-разделения катионов и анионов – были выбраны следующие условия проведения: кварцевый капилляр полной длиной 60 см и эффективной длиной 50 см, внутренним диаметром 75 мкм; диапазон изменения рабочего напряжения от –30 кВ до +30 кВ и температура измерения +20…+25˚С. Использовали длину волны – 200 нм (для катионов) и 230 нм (для анионов). Время определения катионов и анионов составило около 5 минут. Для анализа использовали небольшое количество пробы (2,0 мкл.)

Статистическую обработку и обобщение массивов экспериментальных данных проводили при помощи прикладных сервисных программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 7.0.

2.4. Лабораторное оборудование для проведения исследований

Определение общего азота, массовой доли белка, казеиновых белков в молочном сырье и молочных продуктах были проведены методом Кьельдаля с применением:

- дигестора SH220F (фирмы Hanon, Китай) - система для сжигания по Кьельдалю на 20 позиций. Максимальная температура нагрева 450ºС;

- системы отвода паров серной кислоты WD03;

- системы дистилляции K9840 (фирмы Hanon, Китай) с автоматическим добавлением водного раствора щелочи, бороной кислоты и дистиллированной воды.

Дигестор SH220F осуществляет быстрое разложение проб для последующего проведения химического анализа методом Кьельдаля благодаря блоку, изготовленному из высококачественного графита (рис. 9). Преимуществом блока является высокая теплопроводность, равномерное распределение температуры по всему блоку и большая площадь нагрева установленных пробирок. Принцип действия дигестора SH220F заключается в том, что требуемая температура блока может быть достигнута путем нагрева тепловых нагревательных элементов, установленных в графитовом блоке и управляемых системой контроля с заданным значением требуемой температуры. Основные характеристики представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Технические характеристики дигестора SH220F

Наименование показателя	Предельные значения
Максимальная температура нагрева, ˚С	450
Точность поддержания температуры, ˚С	±1
Объем пробирок для сжигания, мл	300
Количество устанавливаемых пробирок, шт	20
Напряжение питания, В	220±10%
Частота питания, Гц	50
Потребляемая мощность, кВт	3,6

Рисунок 9 - Дигестор SH220F и система отвода паров серной кислоты WD03

Система дистилляции K9840 обеспечивает автоматическую добавку раствора щелочи и воды для разбавления, снижает расход охлаждающей воды, а также автоматически добавляет раствор борной кислоты с индикатором в приемную колбу (рис.10). Прибор генерирует водяной пар, с помощью которого и отгоняются пары образующегося аммиака. Пары (вода и аммиак) проходят через водяной холодильник, и аммиак улавливается раствором кислоты, находящимся в колбе. Основные характеристики системы дистилляции K9840 представлены в таблице 12.

Рисунок 10 - Система дистилляции K9840

Таблица 12 - Технические характеристики системы дистилляции K9840

Наименование показателя	Предельные значения
Диапазон измерения азота, мг	0,1 - 240
Скорость дистилляции, мин/проба	< 5
Время дистилляции, ч	устанавливается оператором (до 1 ч)
Восстановление,%	> 0,5
Расход воды, л/мин	1,5
Давление охлаждающей воды, МПа	>0,15
Напряжение питания, В	220±10%
Частота питания, Гц	50
Потребляемая мощность, кВт	1,3

Структурно-механические характеристики (СМХ) исследуемых объектов определяли с использованием ротационного вискозиметра DV-II+Pro (фирмы Brookfield, США) со стандартным набором шпинделей LV1 - LV4 (рис.11). Использовалось программное обеспечение Rheocalc 32, которое позволяет создать управляющие программы для DV-II+Pro.

Момент кручения для калиброванной пружины в модели – RVDV-II+ Pro составляет 0,7187 мН·м (или 7187,0 Дин·см).

Рисунок 11 - Ротационный вискозиметр Brookfield DV-II+Pro

Принцип работы вискозиметра DV-II+Pro основан на вращении специального измерительного шпинделя, погруженного в испытуемую жидкость, посредством калиброванной спиральной пружины [54]. Шпиндель (1) вращается в жидкости, помещенной в контейнер (2) с помощью мотора (3), помещенного в корпус (4) через калиброванную пружину (5). Вязкое трение жидкости о

шпиндель определяется по закручиванию калиброванной пружины, которое измеряется датчиком угла вращения (рис. 12). Закручивание пружины отражается на дисплее (6), либо выводится на печать [54].

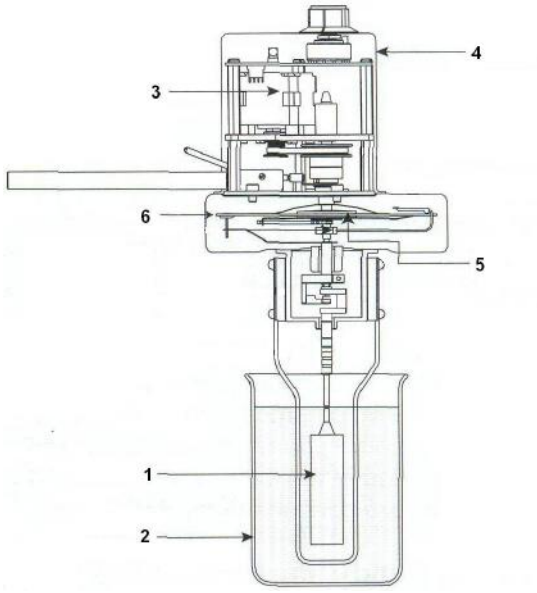


Рисунок 12 - Схема ротационного вискозиметра Brookfield DV-II+Pro

Исследования минерального состава проводили на системе для капиллярного электрофореза фирмы «BeckmanCoulter» (США). Система включает анализатор P/ACE™ MDQ с диодной матрицей и UV/Vis-детектором с настраиваемой длиной волны (прилагаются фильтры 200, 214, 254 и 280 нм) и детектором лазер-индуцированной флуоресценции, источник УФ - излучения, термостатируемый модуль для хранения образцов и персональный компьютер IBM с программным обеспечением P/ACE™ MDQ (рис.13).

Рисунок 13 - Система для капиллярного электрофореза фирмы «BeckmanCoulter».

Для определения температуры замерзания использовали криоскоп Advanced 4250 (США) (рис.14). Работа криоскопа основана на методе определения точки

замерзания, с целью определения количества добавленной воды в молоке. Криоскоп Advanced 4250 определяет температуру пробы за счет теплового датчика высокой точности, а также фиксируя температуру переохлаждения и начало замерзания. Прибор имеет шкалу °С либо шкалу м°Н. Технические характеристики представлены в таблице 13.

Рисунок 14 - Криоскоп Advanced 4250

Таблица 13 - Технические характеристики криоскопа Advanced 4250

Наименование показателя	Предельные значения
Размер образца, мл	2 - 2,5
Время тестирования, сек	около 90
Вместимость образцов	один образец
Диапазон, ˚С	от 0 до 1000
Линейность,%	менее ±0,5
Повторяемость, ˚С	±2
Отклонение, ˚С	Менее 1
Потребляемая мощность, Вт	150

Для определения активной кислотности использовали стационарный pH-метр EDGE HANNA HI 2020 с pH-электродом HI 11310 (рис.15). Технические характеристики pH-метра представлены в таблице 14.

Рисунок 15 - Стационарный pH-метр EDGE HANNA HI 2020 с pH-электродом HI 11310

Таблица 14 – Технические характеристики pH-метра EDGE HANNA HI 2020

Наименование показателя	Предельные значения
Диапазон pH	-2,000…16,000 (± 1000 мВ)
Разрешение pH	0,01; 0,001 (0,1 мВ)
Точность (25° C / 77°F) pH	± 0,2 мВ, ± 0,01 pH, ± 0,002 pH
Калибровка pH	3-точечная, 5 точечная
Буферные растворы	1.68, 4.01, 6.86, 7.01, 9.18, 10.01, 12.45; два пользовательских буфера
Температурная компенсация pH	автоматическая
Диапазон температур	от -20 до + 120°C
Точность температуры	±0,2°C

Определение соматических клеток в молоке измеряли с помощью анализатора "DCC". Анализатор состоит из измерительного блока, в который устанавливается кассета с пробой и красителем, источника УФ-излучения, светофильтров для выделения длин волн возбуждения и регистрации флуоресценции, матричного ПЗС-приемника, блока электроники и микропроцессора (рис. 16). Принцип действия анализаторов основан на автоматическом подсчете помеченных флуоресцентным красителем соматических клеток, находящихся в анализируемой пробе молока, которые флюоресцируют при их облучении ультрафиолетовым (УФ) излучением.

Для проведения анализа проба молока помещается в одноразовую кассету с флуоресцентным красителем и устанавливается в измерительный блок прибора. Далее в измерительном блоке происходит регистрация флуоресцентного излучения соматических клеток на матричном ПЗС-приемнике, число которых подсчитывается с помощью специального программного обеспечения. Технические характеристики анализатора представлены в таблице 15.

Рисунок 16 - Анализатор соматических клеток в молоке "DCC"

Таблица 15 – Технические характеристики анализатора "DCC"

Наименование показателя	Предельные значения
Диапазон измерений счетной концентрации соматических клеток в молоке на 1 см^3	от $0{,}9 \cdot 10^5$ до $1{,}5 \cdot 10^6$
Пределы допускаемой относительной погрешности, %	± 20
Время измерения, сек	не более 30

Определение лактозы проводили с помощью универсального сахариметра СУ-5 (рис.17). В основу принципа действия сахариметра положен поляриметрический метод, базирующийся на способности оптически активных растворов сахарозы вращать плоскость поляризации проходящих через них поляризованных лучей света. Угол вращения плоскости поляризации луча света в объеме раствора определенной толщины пропорционален концентрации раствора и измеряется в градусах международной сахарной шкалы “°S ”. Технические характеристики анализатора представлены в таблице 16.

Рисунок 17 – Сахариметр-поляриметр универсальный СУ-5

Таблица 16 – Технические характеристики сахариметра СУ-5

Наименование показателя	Предельные значения
Диапазон измерений сахариметром угла вращения плоскости поляризации при длине волны λ=589,3 нм, ºS	от -40 до +130
Пределы допускаемой абсолютной погрешности, ºS	± 0,05
Цена деления шкалы, ºS	0,05
Диапазон рабочих температур, °С	10 - 35
Шкала сахариметра должна быть приведена к температуре, ºС	20
Диапазон диоптрийной наводки окуляра зрительной трубки сахариметра	-5,0 - 5,0 диоптрий
Электропитание прибора осуществляется от сети однофазного переменного тока: - напряжением, В - при частоте, Гц	 220 50 ± 1
Потребляемая мощность не превышает, Вт	25

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ И МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ НЕБЕЛКОВОГО АЗОТА В МОЛОКЕ СЫРОМ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

3.1 Разработка методики измерений содержания сывороточных белков с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах

Методика предназначена для определения содержания сывороточных белков в молоке сыром и готовых молочных продуктах методом Кьельдаля.

Разработанная методика обеспечивает выполнение измерений содержания сывороточных белков в диапазоне от 0,30 до 80,0 %.

Метод основан на предварительном осаждении казеина раствором уксусной кислоты, минерализации полученного фильтрата концентрированной серной кислотой в присутствии окислителя, инертной соли и катализатора. В процессе реакции образуется сульфат аммония, растворенный в серной кислоте, который переводится в аммиак, отгонке последнего в раствор борной кислоты, количественном учете аммонийных соединений титриметрическим методом и расчете массовой доли сывороточных белков в анализируемой пробе продукта.

При разработке методики измерений (МИ) содержания сывороточных белков были выполнены следующие этапы:

- первый этап – разработка алгоритма процедуры подготовки пробы для дальнейшего измерения;
- второй этап – оценка влияющего фактора фальсификации молока, как белковыми компонентами, так и ингредиентами немолочного происхождения;
- третий этап – расчет метрологических характеристик.

На первом этапе большое внимание уделили разработке алгоритма процедуры подготовки пробы. Проведены исследования на полноту осаждения белков казеиновой фракции в анализируемой пробе, чтобы полноценно выделить сывороточные белки. Разработка МИ содержания сывороточных белков осуществлялась на образцах молока сырого (с массовой долей белка 3,39%,

кислотностью 16,5 ºТ), на сухом обезжиренном молоке (СОМ) (с массовой долей белка 34,59%, кислотностью 15,4 ºТ) и питьевом йогурте (с массовой долей белка 3,25%, кислотностью 72,5 ºТ) путем 30-ти кратного непосредственного измерения.

В качестве растворов осадителей были выбраны: уксусная кислота концентрацией 10%, соляная кислота 1моль/дм^3 и молочная кислота концентрацией 15%. Доза вносимых осадителей в пробу составила - 1см^3, 2 см^3 и 4 см^3. Сухие молочные консервы восстанавливали в соответствии с требованиями ГОСТ 29245 (п.3.4).

Выбор объема добавляемого осадителя определяли по физико-химическим свойствам белков, установленным, по литературным источникам, так как увеличение концентрации кислоты приводит к снижению значений pH, при котором происходит перезарядка белковых частиц.

В ходе разработки алгоритма процедуры подготовки пробы было выявлено, что для более полного осаждения казеиновой фракции и получения прозрачного фильтрата нужно центрифугировать пробу при (8000 – 10000) об/мин. Учитывая эти условия, в центрифужную пробирку вместимостью 70 - 100 см^3 взвешивали 20 г анализируемого продукта, предварительно нагретого на водяной бане до температуры 40 - 45 °С. В подогретую пробу добавляли 1см^3, 2 см^3 и 4 см^3 раствора осадителя и выдерживали в течение 3 - 5 мин дл+я лучшего осаждения казеина. Изоэлектрическая точка (ИЭТ) казеиновых белков находилась в диапазоне pH 4,6 - 4,7. Пробу центрифугировали в течение 10 мин.

После чего образовавшийся осадок фильтровали через бумажный складчатый фильтр для получения прозрачного фильтрата. Для исследования использовали чистый и прозрачный фильтрат. Полученные усредненные результаты измерений представлены в таблице 17.

Анализ данных таблицы 17 показал, что при увеличении объема вносимого осадителя отмечено повышение содержания сывороточных белков в пробе. Это связано с тем, что pH ИЭТ казеина снижался и находился в диапазоне 3,9-4,2, при

таком значении молекулы белка перезаряжаются и казеин вновь переходит в раствор фильтрата, что приводило к увеличению погрешности измерений СБ на 19%.

Путем дальнейших измерений было установлено, что достоверное значение содержания СБ возможно получать при осаждении казеина 10% уксусной кислотой в объеме 1 см^3, при котором pH ИЭТ казеина составляет 4,6 - 4,7. При соблюдении разработанного алгоритма процедуры пробоподготовки фильтрат был прозрачным, не содержал остаточных казеиновых белков.

Таблица 17 - Влияние раствора осадителя на результат определения сывороточных белков в молоке сыром и молочных продуктах

Исследуемый образец	Тип раствора осадителя								
	уксусная кислота 10%			соляная кислота 1моль/дм^3			молочная кислота 15%		
	1 см^3	2 см^3	4 см^3	1 см^3	2 см^3	4 см^3	1 см^3	2 см^3	4 см^3
Молоко сырое, м.д. белка 3,39%	0,82 ±0,09	0,88 ±0,07	0,98 ±0,09	0,86 ±0,08	0,89 ±0,07	0,99 ±0,10	0,84 ±0,07	0,90 ±0,08	0,98 ±0,10
СОМ, м.д. белка 34,59%	6,55 ±0,10	6,64 ±0,13	6,78 ±0,11	6,61 ±0,12	6,70 ±0,10	6,82± 0,13	6,65 ±0,11	6,72 ±0,13	6,80 ±0,11
Йогурт питьевой, м.д. белка 3,25%	0,58 ±0,10	0,60 ±0,11	0,69 ±0,12	0,62 ±0,12	0,65 ±0,11	0,71 ±0,10	0,63 ±0,11	0,65 ±0,10	0,70 ±0,12

На рисунке 18 представлен алгоритм процедуры подготовки пробы для определения содержания сывороточных белков методом Кьельдаля.

После разработки алгоритма процедуры подготовки пробы перешли к выполнению второго этапа разработки МИ. Этот этап заключался в проверке разрабатываемой МИ к фальсификации исследуемых образцов. Проверку проводили на сухих молочных консервах. Для этого сухое обезжиренное молоко намеренно фальсифицировали сухой сывороткой (СС), крахмалом и лактозой. Эксперимент проводили в пятикратной повторности.

Для проведения эксперимента использовали два контрольных образца СОМ условно обозначенных как СОМ-1 и СОМ-2 с различной массовой долей белка. В первом случае образец СОМ-1 фальсифицировали СС в соотношениях 1:1 и 2:1, а также крахмалом в соотношении 1:1. Далее в СС также добавили крахмал в соотношении 1:1, чтобы оценить влияние крахмала на конечный результат измерений СБ.

Во втором случае, смешивая СОМ-2 и СС, приготовили сухую смесь (Смесь-1) в соотношении 1:1, в которую внесли лактозу и крахмал, получив при этом модели продуктов с различным содержанием белка:

- первый образец - в Смесь-1 добавили лактозу в соотношении 3:1;
- второй образец - в Смесь-1 добавили крахмал в соотношении 3:1.

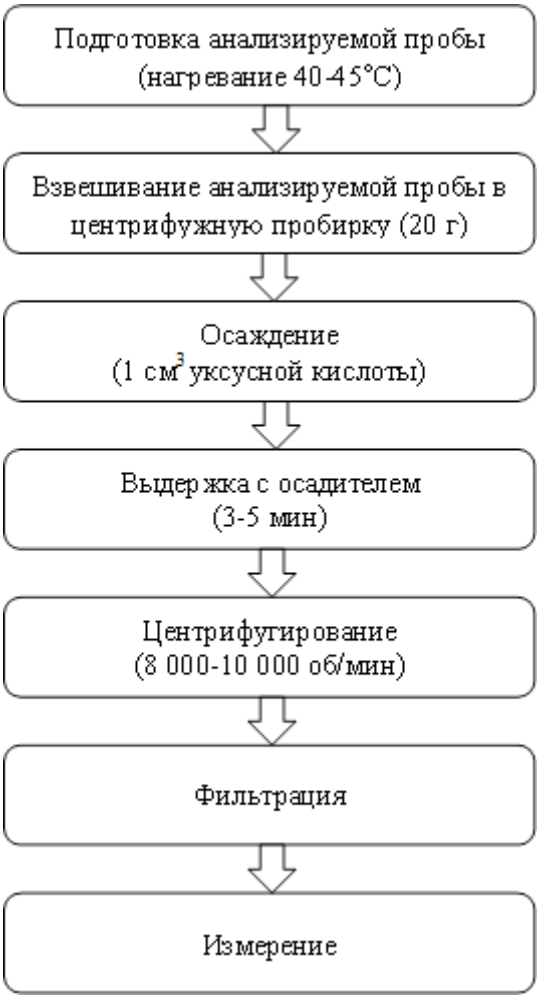


Рисунок 18 – Алгоритм процедуры подготовки пробы для определения содержания сывороточных белков в молоке и молочных продуктах методом Кьельдаля

Согласно разработанной МИ в искусственно созданных образцах измерили содержание сывороточных белков, также определили содержание небелкового азота и массовую долю общего белка. Результаты измерений представлены в таблице 18.

Из таблицы 18 видно, как меняется содержание СБ, НБА и ОБ в исследуемых образцах. При добавлении сухой сыворотки в СОМ в соотношении

1:1 значения ОБ относительно контрольного образца снизилось на 29%, содержание СБ и НБА увеличилось на 48% и 19% соответственно. При добавлении сухой сыворотки в СОМ в соотношении 2:1 значения ОБ снизилось на 22%, содержание СБ и НБА увеличилось на 40% и 14% соответственно.

Таблица 18 - Результаты измерений белкового состава подготовленных образцов

Исследуемые образцы	Массовая доля общего белка, %	Содержание общего азота, %	Содержание сывороточных белков, %	Содержание небелкового азота, %
СОМ-1 (контроль)	35,11±0,22	5,503±0,010	6,55±0,10	0,247±0,003
Сухая сыворотка (СС)	13,68±0,15	2,179±0,009	10,41±0,09	0,186±0,004
СОМ-1+СС (1:1)	24,96±0,18	3,913±0,010	9,73±0,10	0,294±0,003
СОМ-1+СС (2:1)	27,13±0,20	4,252±0,010	9,22±0,10	0,283±0,005
СОМ-1+крахмал	34,78±0,18	5,451±0,010	6,43±0,10	0,251±0,003
СС + крахмал	13,19±0,16	2,101±0,009	10,01±0,09	0,192±0,004
СОМ-2 (контроль)	34,53±0,22	5,413±0,010	6,37±0,10	0,248±0,003
Смесь-1 (СОМ-2+СС) (1:1)	24,39±0,20	3,824±0,010	8,50±0,10	0,280±0,004
Смесь-1+лактоза (3:1)	18,05±0,18	2,829±0,010	5,69±0,10	0,205±0,004
Смесь-1+крахмал(3:1)	18,21±0,18	2,854±0,010	6,83±0,10	0,218±0,003

При внесении крахмала в исследуемые образцы содержание ОБ во всех образцах снижалось от 1% до 25%. При этом содержание СБ снижалось от 1% до 19%, а содержание НБА увеличивалось от 1% до 4%, относительно контрольных образцов. Данный эксперимент показал, что внесение в СОМ немолочных ингредиентов, а также молочных компонентов (СС), приводит к снижению ОБ и к увеличению НБА.

При исследовании готовой Смеси-1 с добавлением лактозы в соотношении 3:1 наблюдалось снижение белкового состава относительно контрольного образца. Значения содержания ОБ, СБ и НБА снижаются на 26%, 33% и 26%, соответственно.

Для того, чтобы выявить влияние вносимых пищевых компонентов, как влияющего фактора на содержание СБ, искусственно приготовили смешанные образцы с разным дозами внесения сухой сыворотки, крахмала и лактозы. В качестве контрольного образца использовали СОМ с ранее промеренным значением содержания СБ, который составил 6,55%. В качестве проверки разработанной МИ к фальсификации в контрольный образец добавляли 5%, 10%,

15%, 25% и 50% пищевого компонента. Такую серию образцов делали с каждым из прописанных компонентов. Измерения проводили согласно разработанной МИ в 30-ти кратной повторности.

Усредненные результаты исследования представлены в графическом виде на рисунке 19. Установили, что при фальсификации СОМ внесением СС опосредовано увеличивается содержание СБ. При этом, чем больше доза внесения сухой сыворотки, тем выше содержание СБ. При фальсификации СОМ такими компонентами, как крахмал и лактоза, содержание сывороточных белков снижается, чем больше доза внесения крахмала или лактозы, тем ниже содержание СБ.

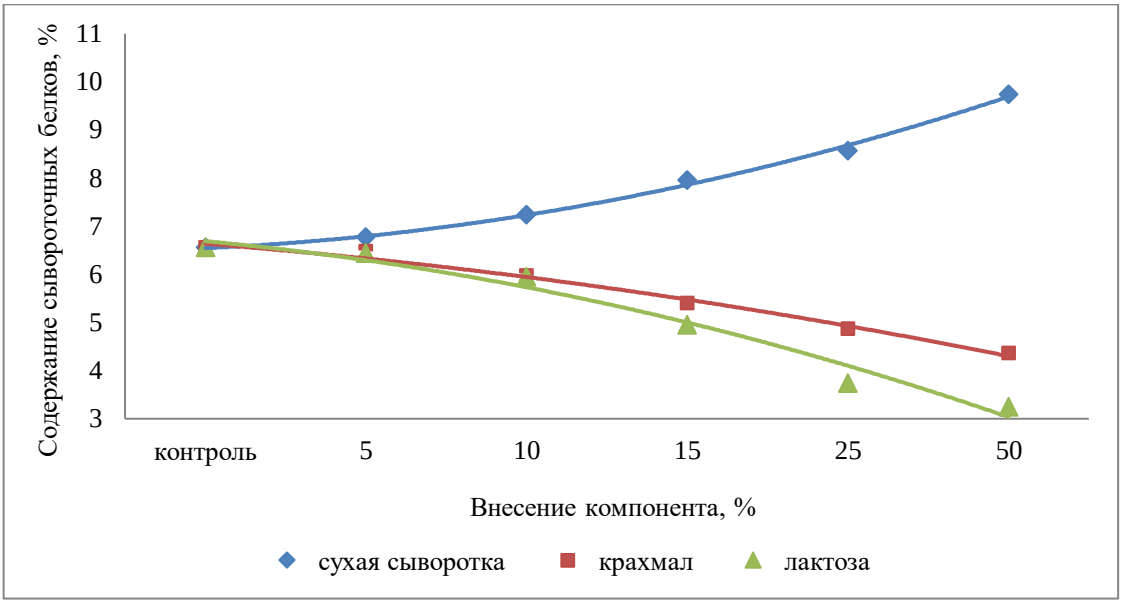


Рисунок 19 – Влияние дозы вносимого компонента в сухое молоко на содержание сывороточных белков

На основании проведенных исследований была выбрана матрица, где X – доза вносимого компонента в СОМ, а Y – значение содержания сывороточных белков. Получены уравнения регрессии, отражающие зависимости изменения содержания СБ (таблица 19). Для оценки статистической значимости коэффициентов регрессии и корреляции рассчитали t-критерий Стьюдента на уровне значимости α=0,05.

Изучили зависимость Y от X. На этапе спецификации была выбрана парная линейная регрессия. Оценили её параметры методом наименьших квадратов.

Статистическую значимость уравнений проверили с помощью коэффициента детерминации и критерия Фишера (таблица 19). Установили, что в исследуемой модели 95,19%, 85,98% и 82,68% общей вариабельности Y объясняется изменением X. Также установлено, что параметры модели статистически значимы. Путем статистического анализа, установили, что:

- при добавлении сухой сыворотки в СОМ увеличение X на 1% приводит к увеличению Y в среднем на 0,0637%;

- при добавлении крахмала в СОМ увеличение X на 1% приводит к уменьшению Y в среднем на 0,0439%;

- при добавлении лактозы в СОМ увеличение X на 1% приводит к уменьшению Y в среднем на 0,0698%.

Таблица 19 – Результаты дисперсионного и корреляционного анализа

Влияющий фактор	Уравнение регрессии	Коэффициент детерминации, R^2	Коэффициент корреляции, R	Критерий Фишера, F
Внесение сухой сыворотки (5-50%)	y = 0,0637 x + 6,712	0,95	0,97	59,41
Внесение крахмала (5-50%)	y = -0,0439 x + 6,333	0,85	0,93	18,39
Внесение лактозы (5-50%)	y = -0,0698 x + 6,326	0,83	0,91	14,32

Заключительный этап разработки МИ заключался в статистической обработке полученных результатов. Обработку полученных результатов измерений проводили по разработанной формуле с учетом всех объемов реактивов, массы навески и коэффициентов пересчета. Массовую долю сывороточных белков X, %, в анализируемой пробе продукта вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot n \cdot 14{,}0067 \cdot 6{,}28 \cdot 100}{m \cdot 1000}, \qquad (10)$$

где V – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование испытуемого раствора, см^3;

V1 – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование контрольной пробы, см^3;

n – фактическая молярная концентрация соляной кислоты, моль/дм^3, в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.1;

14,0067 – масса азота, эквивалентная 1 дм^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 1 моль/дм^3, г;

6,28 – коэффициент пересчета массовой доли азота в анализируемой пробе на массовую долю сывороточных белков;

100 – коэффициент пересчета результатов в проценты;

m – масса анализируемой пробы, г;

1000 – коэффициент пересчета см^3 в дм^3.

Массовую долю сывороточных белков X1, %, в сухих продуктах вычисляли по формуле:

$$X1 = \frac{X}{X2} \times X3, \qquad (11)$$

где X – массовая доля сывороточного белка в фильтрате, %, определенная по формуле (10);

X2 – массовая доля общего белка в восстановленном продукте, %, определенная по формуле (12);

X3 – массовая доля общего белка в сухом продукте, определенная по ГОСТ 34454, %.

Массовую долю общего белка в восстановленном продукте X2, %, определяли по формуле:

$$X2 = \frac{(V - V_1) \cdot n \cdot 14{,}0067 \cdot 6{,}38 \cdot 100}{m \cdot 1000}, \qquad (12)$$

где V – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование испытуемого раствора, см^3;

V1 – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование контрольной пробы, см^3;

N – фактическая молярная концентрация соляной кислоты, моль/дм^3, в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.1;

14,0067 – масса азота, эквивалентная 1 дм^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 1 моль/дм^3, г;

6,38 – масса молочного белка, эквивалентная единице массы общего азота (при определении сывороточных белков в сывороточных белковых концентратах применяют коэффициент 6,28);

100 – коэффициент пересчета результатов в проценты;

m – масса анализируемой восстановленной пробы, г;

1000 – коэффициент пересчета см^3 в дм^3.

Метрологические характеристики метода определения массовой доли сывороточных белков при доверительной вероятности P=0,95 приведены в таблице 20.

Таблица 20 - Метрологические характеристики метода определения массовой доли сывороточных белков

Наименование продукта	Диапазон измерений массовой доли сывороточных белков, %	Предел повторяемости r, %	Предел воспроизво-димости R, %	Границы, относительной погрешности ± δ, %
Молоко и молочные продукты	0,30 – 8,00	$0{,}15X_{ср}$	$0{,}25\ X'_{ср}$	18
Сухие молочные консервы	2,00 – 30,00	$0{,}10X_{ср}$	$0{,}20\ X'_{ср}$	14
Концентраты сывороточных белков	10,00 – 80,00	$0{,}05X_{ср}$	$0{,}10\ X'_{ср}$	8

$X_{ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, %;
$X'_{ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в разных лабораториях, %.

Исходя из полученных результатов исследований, можно сделать вывод, что разработанная МИ позволяет проводить измерения как в молоке сухом, так и в смеси с различными компонентами, применяемыми при фальсификации сухого молока. Полученные результаты эксперимента позволили определить количество внесения фальсифицирующих компонентов в сухое молоко от 10% и более.

3.2 Модификация методики измерений содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах

Методика предназначена для определения содержания небелкового азота в молоке сыром и молочных продуктах методом Кьельдаля. Ранее методика была разработана и рассмотрена в работах Юровой Е.А.[101], но в связи с расширением области применения и установленных диапазонов, корректировки процедуры измерений и уточнении применяемой формулы расчета данной МИ появилась необходимость в ее модификации и совершенствовании.

Модифицированная методика обеспечивает выполнение измерений содержания небелкового азота в диапазоне от 0,005 до 5,000%.

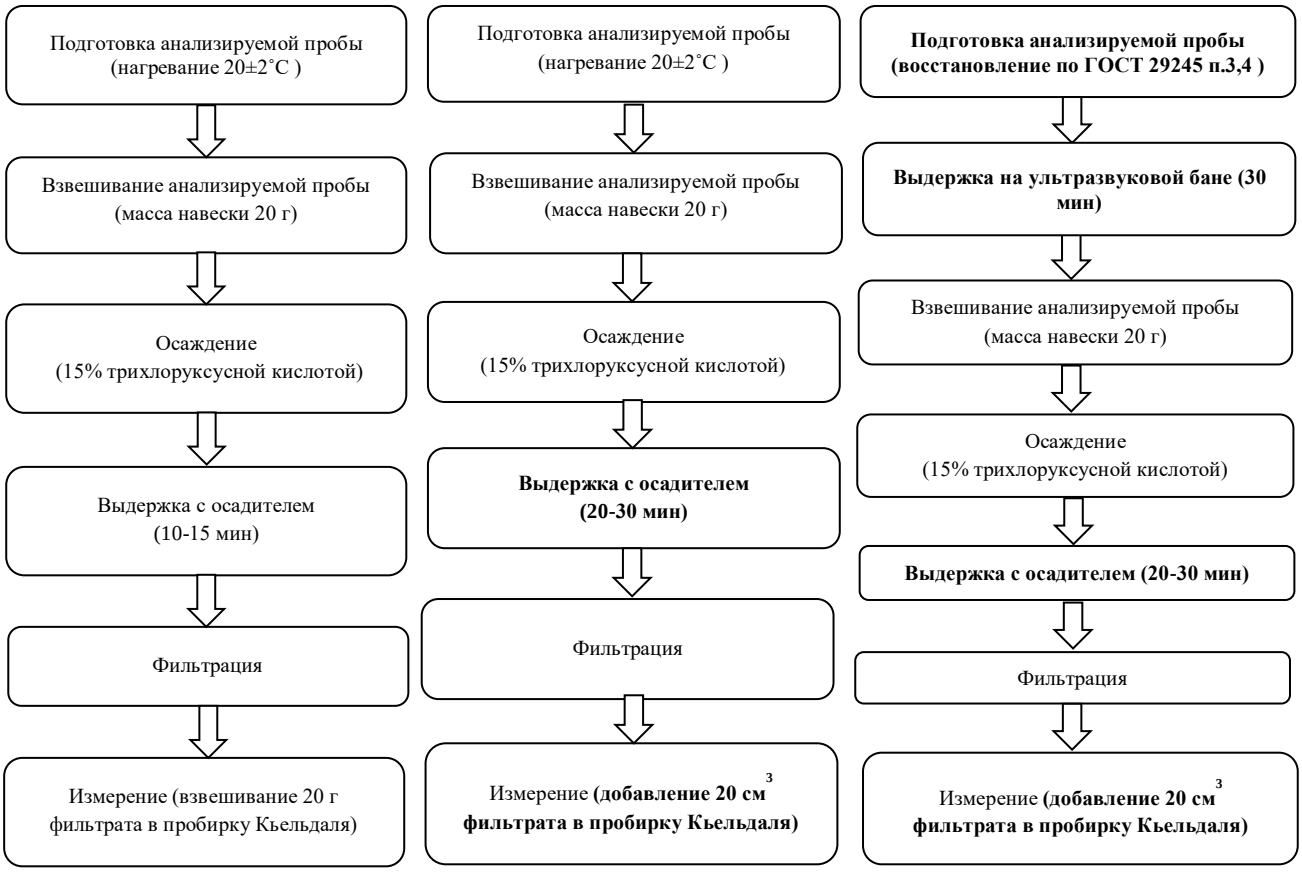
Метод основан на предварительном осаждении белковых азотистых веществ раствором трихлоруксусной кислоты, минерализации органического вещества полученного фильтрата концентрированной серной кислотой в присутствии окислителя и катализатора с образованием сернокислого аммония, переведении его в аммиак, отгонке последнего в раствор борной кислоты, количественном учете аммиака титриметрическим методом и расчете содержания небелкового азота в анализируемой пробе продукта.

Принципиальные отличия от ранее разработанной и стандартизованной методики измерений содержания небелкового азота по ГОСТ Р 55246-2012 заключаются в расширении области её применения, в усовершенствованной процедуре пробоподготовки, в проведении измерений и метрологической обработке полученных результатов (рис. 20).

Оценивание случайной составляющей погрешности измерения содержания небелкового азота, предусмотренного МИ, осуществляли на образцах молока сырого и молочных продуктах путем 20-ти кратного непосредственного измерения.

В процессе модификации МИ содержания небелкового азота в молоке и молочных продуктах на этапе осаждения анализируемой пробы 15%-ным

раствором трихлоруксусной кислоты время выдержки в растворе осадителя увеличили с 10-15 мин до 20-30 мин, что гарантирует полное осаждение белка.



а) б) в)

Рисунок 20 – Алгоритм процедуры подготовки пробы для определения небелкового азота методом Кьельдаля: а) процедура подготовки пробы в соответствии с ГОСТ Р 55246-2012; б) модифицированная процедура подготовки пробы для молока сырого и кисломолочных молочных по проекту ГОСТ; в) модифицированная процедура подготовки пробы для молочных консервов по проекту ГОСТ

При работе с сухими молочными консервами предварительно их восстанавливали в соответствии с требованиями ГОСТ 29245 (п.3.4) и определение проводили уже в восстановленной пробе. Для определения содержания небелкового азота в твороге и творожных продуктах использовали также навеску 20 г. Анализируемую пробу доводили 15%-ным раствором трихлоруксусной кислоты до метки, выдерживали мерную колбу с анализируемой пробой на ультразвуковой бане, для более эффективного осаждения. Затем

оставляли пробу в покое на 20-30 мин и далее проводили измерение согласно схеме на рисунке 20.

После расслоения надосадочную жидкость фильтровали через сухой бумажный складчатый фильтр. Фильтрат был прозрачным, без наличия каких-либо частиц. В отличие от стандартизованной методики, где в пробирку Кьельдаля взвешивали 20 г фильтрата, что приносило много неудобств и сказывалось на потери пробы, в модифицированной МИ в пробирку Кьельдаля помещали при помощи цилиндра 20 см^3 фильтрата, объем которого в обязательном порядке учитывали в расчетных формулах.

При сравнительном анализе методик измерений содержания НБА, выявили ошибку в обработке и расчете полученных результатов по ГОСТ Р55246-2012, что учли при модификации МИ. Значения содержания НБА, измеренные по модифицированной методике соответствуют регламентированным значениям (раздел 1.5, таблица 7), в отличие от ГОСТ Р 55246-2012 (таблица 21).

По полученным результатам эксперимента (таблица 21) было установлено, что значения содержания НБА в молоке сыром и молочных продуктах, полученные по ГОСТ Р 55246-2012 значительно ниже установленных значений, полученных с применением модифицированной МИ. Сниженное значение НБА свидетельствует о плохой воспроизводимости результатов измерений.

Таблица 21 – Сравнительное содержание небелкового азота в молоке сыром и молочных продуктах

Наименование образца	Содержание небелкового азота, %	
	По ГОСТ Р 55246-2012	Модифицированная МИ (проект ГОСТ)
Молоко сырое	0,006±0,003	0,032±0,005
Молоко питьевое: - пастеризованное - УВТ-обработанное	 0,007±0,003 0,006±0,003	 0,035±0,006 0,028±0,005
Сливки сырые	0,005±0,004	0,025±0,005
Сливки питьевые	0,004±0,004	0,021±0,004
Сыворотка жидкая	0,008±0,003	0,039±0,003

С целью расширения области применения МИ разработана для определения содержания НБА в таких молочных продуктах, как кефир, простокваша, творог и

творожный продукт, йогурт и йогуртный продукт, а также для сухих молочных консервов. Результаты исследований содержания белкового состава молочных продуктов представлены в таблице 22.

Согласно полученным результатам содержание НБА в молочных продуктах возрастает по сравнению с молоком сырьем на 10 - 35%. В сухих молочных консервах ранее полный белковый состав не изучался, поэтому полученные значения интересны для технологических процессов.

Таблица 22 - Белковый состав молочных продуктов

Наименование образца	Массовая доля общего белка, %	Содержание общего азота, %	Содержание сывороточных белков, %	Содержание небелкового азота, %	Содержание казеиновых белков
Кефир, м.д.ж. 3,2%	3,56±0,08	0,559±0,07	0,47±0,06	0,049±0,003	2,98±0,07
Биокефир, м.д.ж. 2,5%	3,19±0,07	0,501±0,07	0,39±0,05	0,076±0,003	2,70±0,05
Простокваша, м.д.ж. 3,2%	3,35±0,10	0,573±0,07	0,35±0,07	0,039±0,003	2,99±0,05
Йогурт, м.д.ж. 2,5%	3,26±0,07	0,512±0,08	0,43±0,08	0,045±0,004	2,73±0,06
Йогуртный продукт, м.д.ж. 2,2%	3,64±0,09	0,570±0,08	0,92±0,07	0,107±0,004	2,68±0,05
Творожный продукт, м.д.ж. 5,0%	6,27±0,10	0,983±0,08	1,62±0,08	0,041±0,004	4,55±0,04
Творог весовой, м.д.ж. 9,0%	17,17±0,10	2,690±0,07	2,66±0,05	0,135±0,004	14,47±0,05
Сухое обезжиренное молоко, м.д.ж. 0,5%	34,36±0,22	5,385±0,11	6,85±0,09	0,279±0,005	27,41±0,06
Сухое цельное молоко, м.д.ж. 26,0%	23,58±0,19	3,696±0,12	5,32±0,10	0,323±0,006	18,17±0,07
Сухая молочная сыворотка, м.д.ж. 0,2%	10,02±0,15	1,596±0,10	7,97±0,09	0,227±0,004	1,98±0,05

На основании полученных результатов была откорректирована формула расчета массовой доли небелкового азота с учетом всех разведений и объемов.

Массовую долю небелкового азота X, %, в анализируемой пробе вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot n \cdot V_3 \cdot 0{,}014 \cdot 100}{m \cdot V_4}, \qquad (13)$$

де V_1 – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование испытуемого раствора, см^3;

V_2 – объем раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, израсходованной на титрование в контрольной пробе, см^3;

n – фактическая молярная концентрация соляной кислоты, моль/дм^3, в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.1;

V_3 – общий объем раствора, полученный при разведении пробы продукта раствором трихлоруксусной кислоты, см^3 (V_3 = 100 см^3);

0,014 – масса азота, эквивалентная 1 мм^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, г;

100 – коэффициент перевода в проценты;

m – масса анализируемой пробы, г;

V_4 – объем фильтрата, взятый для анализа, см^3 (V_3 = 20 см^3).

Массовую долю небелкового азота X_1, %, в анализируемой пробе сухих и сгущенных продуктов вычисляют по формуле

$$X_1 = X \cdot m_1, \qquad (14)$$

где X – массовая доля небелкового азота, определенная по формуле (13), %;

m_1 – масса анализируемой пробы сухого или сгущенного продукта, взятого для восстановления (разведения), г.

За окончательный результат определения принимали среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Метрологические характеристики метода определения массовой доли небелкового азота при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 23.

Таблица 23 - Метрологические характеристики МИ содержания небелкового азота

Диапазон измерений массовой доли небелкового азота, %	Предел повторяемости *r*, %	Предел воспроизво-димости *R*, %	Границы, относительной погрешности ± δ, %
0,005 – 5,000	$0{,}15X_{ср}$	$0{,}25\ X'_{ср}$	18
$X_{ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, %; $X'_{ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в разных лабораториях, %.			

Полученные результаты измерений с применением разработанных МИ позволяют осуществлять измерения СБ и НБА в установленных диапазонах с метрологическими характеристиками установленной погрешности.

С помощью разработанных МИ можно определить фальсификацию молока азотистыми веществами или использование немолочных видов сырья на стадии его приемки, определить требуемые параметры технологических процессов.

Разработанные МИ позволяют высокоточно и эффективно анализировать качество как молочного сырья, поступающего на предприятие, так и готовый продукт на выходе.

ГЛАВА 4. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МОЛОКА СЫРОГО ПО БЕЛКОВОМУ СОСТАВУ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Одним из влияющих факторов на разработанную МИ определения содержания СБ и модифицированную МИ определения содержания НБА является состав молока различных сельскохозяйственных животных. В разделе 1.5 определены основные показатели идентификации молока сырого, одним из критериев которого является НБА, содержание которого не регламентировано для козьего и овечьего молока. Полученные значения НБА позволят установить нормирование данных показателей для козьего и овечьего молока.

Для выполнения поставленной цели была выполнена комплексная оценка коровьего, козьего и овечьего молока по составу белка и физико-химическим показателям. Результаты физико-химического анализа молока сырого приведены в таблице 24, где представлены исследования по определению белкового состава, мочевины, активной и титруемой кислотности, температуры замерзания и др. показателей.

Исходя из полученных результатов исследований, были отмечены существенные различия белкового состава между козьим, коровьим и овечьим молоком. Из таблицы 24 следует, что значения массовой доли белка, содержание сывороточных и казеиновых белков в овечьем молоке на 17%, 20% и 16% выше, чем у козьего и коровьего молока, соответственно. Содержание небелкового азота выше у козьего сырого молока в среднем на 11%, чем у коровьего и овечьего молока.

Показатели кислотности, плотности и соматических клеток находятся в диапазоне, установленном нормативной документацией [30,31,32].

Массовая доля жира в козьем и овечьем молоке, соответственно, на 12% и 17% выше, чем у коровьего молока. Также исследования физико-химических показателей козьего, овечьего и коровьего сырого молока позволили выявить значительные различия в содержании таких показателей, как мочевина,

температура замерзания. Наименьшие изменения отмечены по содержанию массовой доли лактозы, активной и титруемой кислотности.

По результатам проведенных исследований значение эффективной вязкости у овечьего сырого молока выше, чем у козьего и коровьего сырого молока на 26% и 33%, соответственно. Это связано в первую очередь с повышенным содержанием массовой доли жира, а также белка (именно казеиновой фракции) в овечьем молоке.

Таблица 24 - Физико-химические показатели козьего, овечьего и коровьего сырого молока

Наименование показателя	Коровье молоко	Козье молоко	Овечье молоко
Массовая доля белка, %	3,35±0,09	3,66±0,11	5,71±0,12
Содержание общего азота, %	0,525±0,008	0,574±0,008	0,895±0,007
Содержание НБА,%	0,031±0,005	0,041±0,006	0,035±0,008
Содержание сывороточных белков, %	0,82±0,03	0,96±0,04	1,81±0,06
Содержание казеиновых белков,%	2,55±0,04	2,72±0,05	3,91±0,06
Содержание истинного белка,%	3,15±0,10	3,40±0,11	5,48±0,12
Массовая доля жира, %	3,5±0,05	3,8±0,05	5,4±0,05
Массовая доля влаги, %	87,84±0,60	86,87±0,80	84,15±1,20
Массовая доля СОМО, %	8,62±0,40	8,83±0,40	11,57±0,40
Массовая доля лактозы, %	4,97±0,35	4,60±0,30	4,84±0,25
Содержание мочевины, мг %	29,80±0,80	40,30±2,25	37,60±3,60
Кислотность, ˚Т	17,0±0,8	19,0±1,2	24,0±1,5
Активная кислотность (величина pH), ед.	6,69±0,02	6,49±0,03	6,65±0,04
Содержание соматических клеток в 1 см^3	$2,26 \cdot 10^5$	$1,10 \cdot 10^6$	$1,02 \cdot 10^6$
Плотность, кг/м^3	1027,5±0,2	1030,0±0,2	1030,2±0,2
Температура замерзания, ˚С	- 0,518	-0,550	- 0,532
Эффективная вязкость, Па·с	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$

Проведенная комплексная оценка молока сырого позволила установить зависимость содержания НБА от содержания мочевины. Из рисунка 21 видно, что повышение содержания мочевины приводит к увеличению содержания НБА и общего белка в молочном сырье, при этом снижается содержание истинного белка. Содержание СБ и КБ не влияют на содержание мочевины.

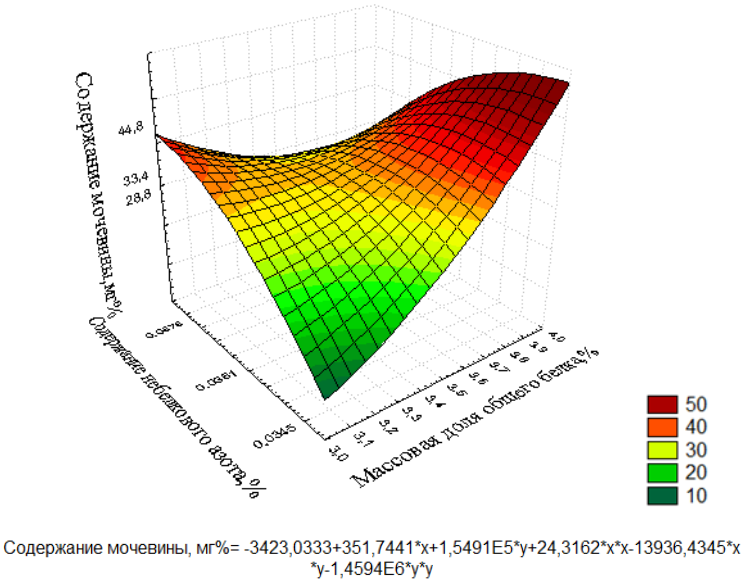


Рисунок 21 – Изменение содержания мочевины в молоке сыром от содержания НБА и общего белка

Провели сравнительный анализ содержания минеральных веществ в сыром молоке разных сельскохозяйственных животных. При условии, что кальций связан с казеином, как в органической, так и минеральной форме, изучение его содержания представляло особый интерес. Согласно результатам таблицы 25 самая высокая концентрация кальция наблюдается у овечьего молока и составила 203,70 мг/100г; в то время как у козьего и коровьего молока концентрация кальция в 1,5 раза меньше. Содержание фосфора в овечьем молоке в 1,3 раза превышает аналогичные данные коровьего и козьего молока.

Таблица 25 - Содержание минеральных веществ в коровьем, козьем и овечьем молоке

Минеральный состав	Коровье молоко	Козье молоко	Овечье молоко
Кальций, мг/100г	120,28 ±0,10	133,86 ±0,11	203,70 ±0,13
Фосфор мг/100г	85,00±0,12	92,00±0,14	118,00±0,16
Фосфаты,г/дм^3	1,80 ±0,50	2,32 ±0,55	2,40 ±0,55
Хлориды,г/дм^3	1,48 ±0,20	2,27 ±0,30	1,59 ±0,33
Сульфаты, г/дм^3	1,97 ±0,40	1,97 ±0,20	1,95 ±0,22
Цитраты, г/дм^3	2,68 ±0,40	2,97 ±0,22	3,44 ±0,30

По содержанию фосфатов, хлоридов, цитратов овечье и козье сырое молоко преобладают над коровьим молоком. Содержание сульфатов в сыром молоке всех видов сельскохозяйственных животных находится на одном уровне. В целом можно сделать вывод, что содержание минеральных веществ в овечьем молоке

преобладает над коровьим и козьим молоком, что связано с повышенным содержанием белка, а именно – его казеиновой фракции.

Провели измерения эффективной вязкости (ЭВ) коровьего, козьего и овечьего молока при разных скоростях сдвига от 5 до 90 $с^{-1}$. С увеличением скорости сдвига значение ЭВ молока сырого у всех сельскохозяйственных животных увеличилось в среднем на $0{,}2\text{-}0{,}4\cdot10^3$ Па·с. Анализируя экспериментальные данные рисунка 22 установили, что при использовании скорости сдвига свыше 15 $с^{-1}$ результаты измерений ЭВ сильно искажаются. Можно сделать вывод о значительном влиянии скорости сдвига на корректность измерений вязкости.

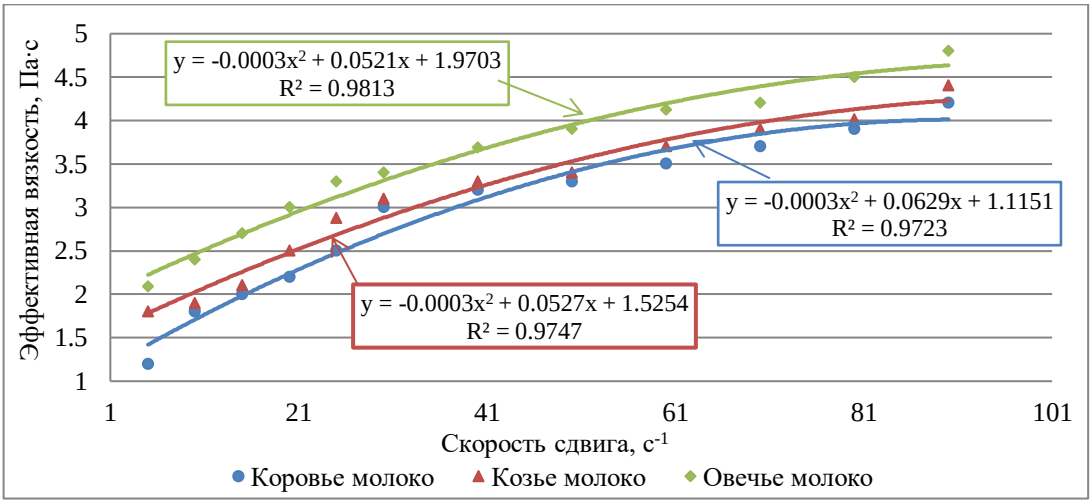


Рисунок 22 – Значения эффективной вязкости коровьего, козьего и овечьего молока измеренные при разных скоростях сдвига от 5 до 90 $с^{-1}$.

Согласно литературным источникам, в течение года происходят изменения в составе молока и его свойствах. Содержание белка в сыром молоке подвержено существенным колебаниям под влиянием различных факторов, в том числе порода животных, качество и состав кормов, рацион кормления коров. Немаловажное значение имеют условия содержания животных и другие факторы внешней среды. Большинство указанных влияющих факторов связаны с сезоном года, поскольку именно по сезонам происходят их существенные изменения. В связи с этим определенный интерес представляет оценка влияния сезона года на белковый состав коровьего, козьего и овечьего сырого молока.

На рисунках 23 – 26 представлены диаграммы по изменению белкового состава сырого молока разных сельскохозяйственных животных по сезонам в среднем за весь период исследований.

Исследования физико-химических показателей коровьего, козьего и овечьего молока проведенные в течение года позволили сделать вывод, что существует зависимость содержания массовой доли белка, содержания НБА, СБ и КБ по сезонам года. Полученная зависимость наблюдалась на всех исследованных образцах молока сырого.

При комплексной оценке молока сырого наблюдаем, что в весенний период у всех видов сельскохозяйственных животных молоко с низким содержанием белка, НБА, СБ, КБ (рис.23-26) и минеральных веществ (таблица 26). В зимний и летний периоды у коровьего молока более высокие значения белкового состава и минеральных веществ. В то время как у козьего и овечьего молока биологическая ценность выше в летний и осенний периоды, что связано с рационом кормления животных и условий их содержания.

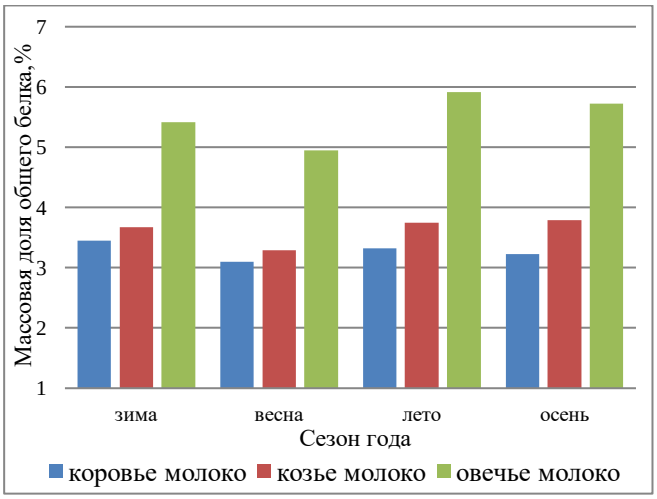


Рисунок 23 – Влияние сезона года на массовую долю общего белка молока сырого

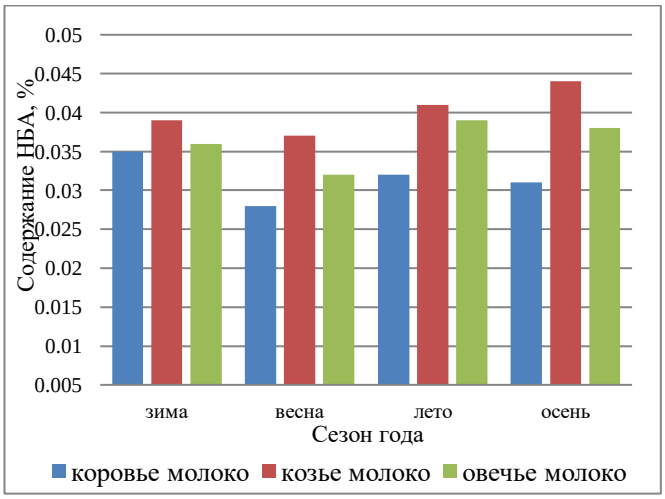


Рисунок 24 – Влияние сезона года на содержание небелкового азота молока сырого

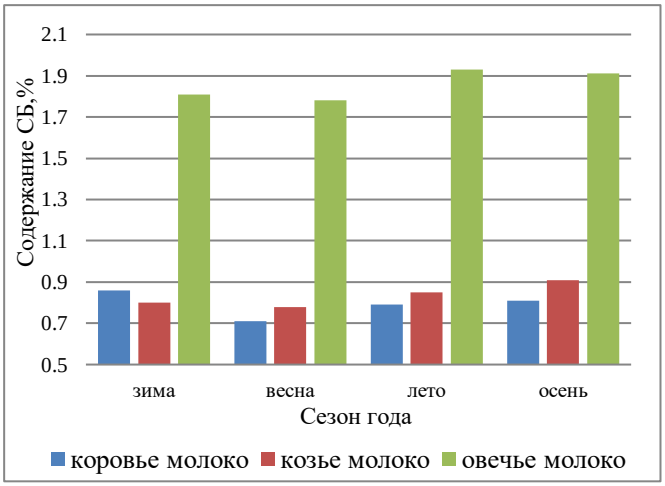


Рисунок 25 – Влияние сезона года на содержание сывороточных белков молока сырого

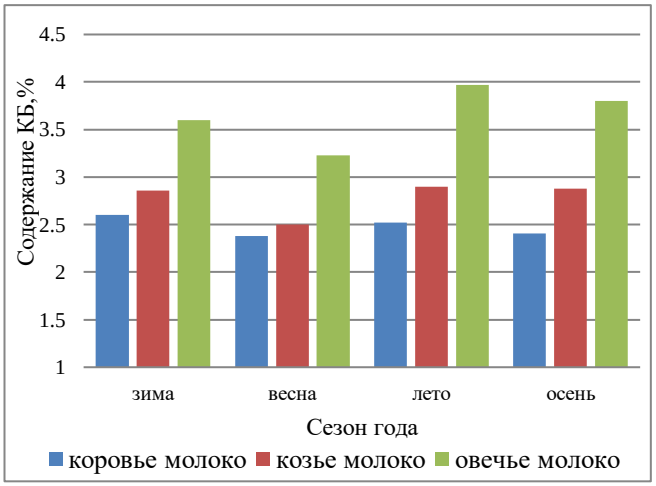


Рисунок 26 – Влияние сезона года на содержание казеиновых белков молока сырого

Проанализировали полученные результаты изменений белкового состава молока сырого коровьего, козьего и овечьего по отдельности. Содержание общего белка в коровьем молоке в течение года варьировалось от 3,03 до 3,65%, казеиновых белков – от 2,18 до 2,60%. Диапазон колебаний общего белка в козьем молоке в зависимости от сезона года составил от 3,20 до 3,79%, казеиновых белков – от 2,30 до 3,00%. Наибольшим сезонным изменениям подвержен белковый состав овечьего молока. Содержание общего белка варьируется от 4,95 до 5,91%, казеиновых белков – от 3,20 до 4,00%.

Разработанными МИ в течение года проводили измерения содержания НБА и СБ, что позволило установить достоверные диапазоны значений. Наибольшие изменения по сезонам года отмечено по содержанию НБА, диапазон колебаний составил от 0,028 до 0,035% в коровьем молоке, от 0,037 до 0,044% в козьем молоке и от 0,032 до 0,040% в овечьем молоке.

В незначительной степени отмечено влияние сезонности на содержание СБ. Интересные значения содержания СБ получили у овечьего молока, диапазон колебаний составил от 1,60 до 1,93%. В коровьем и в козьем молоке изменений по содержанию СБ практически не наблюдалось и значения составили от 0,71 до 0,90% и от 0,78 до 0,95% соответственно.

Таблица 26 - Содержание кальция и фосфора в коровьем, козьем и овечьем молоке в течение года

Наименование образца	Содержание минеральных веществ, мг/100г							
	зима (январь-февраль)		весна (март-май)		лето (июнь-август)		осень (сентябрь-ноябрь)	
	Ca* Δ±0,11	P* Δ±0,14	Ca* Δ±0,10	P* Δ±0,12	Ca* Δ±0,11	P* Δ±0,12	Ca* Δ±0,11	P* Δ±0,14
Коровье молоко	127	92	119	77	125	87	122	85
Козье молоко	132	85	129	81	136	93	138	97
Овечье молоко	190	109	178	101	204	119	198	112

* - условное обозначение кальция – Ca; условное обозначение фосфора - P

Проведенные исследования позволили установить, что коровье, козье и овечье молоко сильно различается по физико-химическим показателям. Полученные результаты исследования объясняются составом и свойствами молока разных сельскохозяйственных животных, что доказывает необходимость разработки требований и норм для данного вида молока, в первую очередь по белковому составу.

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ХРАНЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МОЛОКА СЫРОГО И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

5.1 Изучение влияния температурной обработки на состав сырого молока

На данном этапе работы был проведен ряд экспериментов, в которых сырое коровье молоко подвергалось температурной обработке в сухожаровом шкафу при (95±2)˚С.

Было проведено три эксперимента в пятикратной повторности. Обобщенный результат представлен в таблице 27, достоверность составляла $P > 0,96$.

Эксперимент 1 – температура обработки сырого коровьего молока (95±2)˚С, продолжительность обработки 10 секунд.

Эксперимент 2 – температура обработки сырого коровьего молока (95±2)˚С, продолжительность обработки 1 минута.

Эксперимент 3 – температура обработки сырого коровьего молока (95±2)˚С, продолжительность обработки 20 минут.

В исходном сыром и обработанном молоке рассмотрели такие показатели, как массовую долю белка, содержание общего азота, казеиновых белков, содержание кальция и фосфора, чтобы изучить влияние температурной обработки на белковый состав сырого молока. Отдельное внимание отведено таким показателям как содержание СБ и НБА, которые определяли разработанными МИ.

Для проведения эксперимента молоко отбирали в термостойкие химические стаканы ёмкостью 600 мл и каждую партию исследуемых образцов выдерживали в сухожаровом шкафу при температуре (95±2)˚С.

В исследуемых образцах, подвергшихся температурной обработке, выявлено снижение содержания сывороточных белков. После температурной

обработки в течение 10 секунд наблюдается снижение содержания СБ на 10-17% относительно контроля. Остальные показатели остались на одном уровне значений.

С повышением продолжительности температурной обработки до 20 минут значения содержания СБ критически снижаются на 40-50%. Это можно объяснить тем, что при нагревании происходит изменение белковой фазы молока, которое сопровождается, прежде всего, денатурацией сывороточных белков. Содержание казеиновых белков незначительно повышается в зависимости от продолжительности температурной обработки на 5-10%. При определении содержания НБА его значение по сравнению с контрольной точкой после температурной обработки в течение 20 мин увеличилось на 33%.

Таблица 27 - Физико-химический состав сырого коровьего молока при температурной обработке

Наименование показателя	Продолжительность температурной обработки сырого молока			
	контроль	10 сек	1 мин	20 мин
Массовая доля общего белка,%	3,36±0,11	3,37±0,10	3,39±0,12	3,45±0,11
Содержание ОА,%	0,527±0,005	0,528±0,004	0,531±0,004	0,541±0,005
Содержание НБА,%	0,027±0,006	0,026±0,007	0,027±0,006	0,036±0,008
Содержание СБ,%	0,78±0,08	0,64±0,09	0,56±0,08	0,40±0,07
Содержание КБ,%	2,60±0,09	2,75±0,10	2,84±0,09	3,05±0,09
Содержание кальция, мг/100г	120,1± 0,11	120,1 ± 0,10	120,06± 0,12	118,1± 0,11
Содержание фосфора, мг/100г	82,2±0,13	82,1±0,12	82,15±0,12	79,8±,11

В процессе температурной обработки происходит изменение содержания минеральных веществ в молоке, который имеет необратимый характер (таблица 27, рисунок 27). Содержание кальция и фосфора после температурной обработки относительно контрольного образца снижается на 2% и 3%, соответственно.

В исследуемых образцах определили минеральный состав (фосфаты, цитраты, хлориды и сульфаты). Согласно полученным электрофореграммам,

регистрировали выход анионов в исследуемых образцах в следующем порядке: хлорид-ион, нитрат-ион, сульфат-ион, азид-ион, цитрат-ион, фосфат-ион. Из сравнительного анализа рисунка 27 видно, что концентрация нитратов, сульфатов остается без изменений, так как время миграции пиков, их площадь и концентрация не меняется. Концентрация хлоридов, цитратов, фосфатов незначительно увеличивается на 1-2%, меняется время миграции и пики увеличиваются.

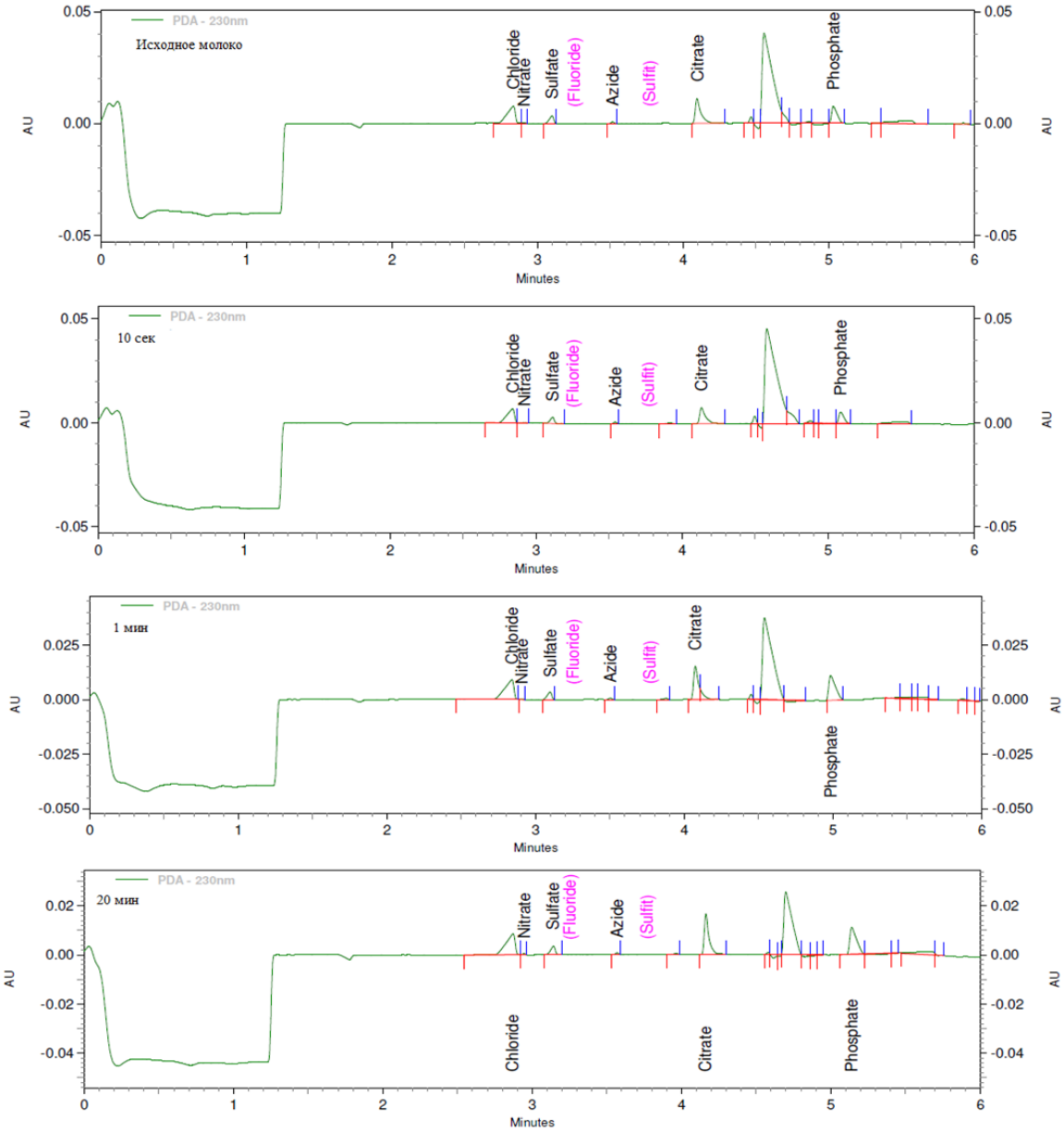


Рисунок 27 - Сравнительная электрофореграмма минерального состава термообработанного молока

Из анализа полученных результатов, была установлена зависимость белкового состава и содержания минеральных веществ молока от продолжительности его температурной обработки. С увеличением продолжительности температурной обработки молока сырого происходит денатурация сывороточных белков и частичное их разрушение, что проводит к снижению определения СБ в образце. Предположительно, нарушается соотношение форм солей кальция, что способствует переходу гидрофосфата кальция, находящегося в виде истинного раствора, в плохо растворимый фосфат кальция. Следовательно, меняется ККФК, так как от него вследствие теплового воздействия отщепляется органический фосфор и кальций, что объясняется снижением содержания кальция и фосфора в молоке, которые влекут за собой изменение структуры мицеллы казеина, в данном случае сопровождающиеся незначительным повышением его содержания в термообработанном молоке в зависимости от продолжительности температурной обработки. Таким образом, после температурной обработки молока снижается количество растворимых солей кальция, что приводит к ухудшению сычужной свертываемости молока.

Отмечено увеличение содержания НБА в термообработанном молоке более чем на 33%. При значительном количестве небелкового азота в молоке сыром на входном контроле его количество только увеличивалось после температурной обработки.

5.2 Изучение влияния мембранных способов обработки на состав сырого молока

Для изучения влияния мембранных способов обработки на состав сырого молока провели концентрирование молока сырого коровьего и козьего методом микрофильтрации и выработали продукт на их основе, а именно йогурт. Эксперимент проводили в соответствии со схемой (рисунок 28). Фактор концентрации обезжиренного молока приняли равным 2.

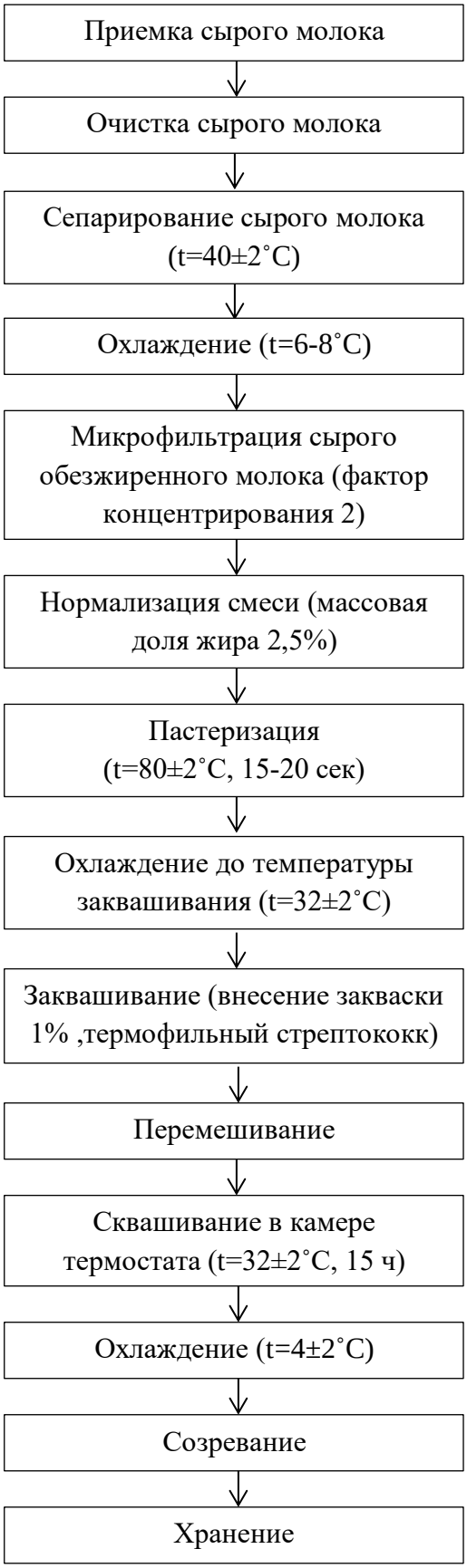


Рисунок 28 – Схема выработки йогурта методом микрофильтрации

В таблице 28 представлены результаты белкового состава и эффективной вязкости коровьего, козьего молока и молочных продуктов, выработанных на их основе. Йогурт из овечьего молока не получилось выработать, так как не удалось провести концентрирование молока на мембранной установке в связи с физико-химическими особенностями овечьего молока.

Согласно полученным результатам исследования, после применения метода микрофильтрации при сравнении исходного молока с концентрированным наблюдается повышение содержания массовой доли белка, сывороточных и казеиновых белков в 2 раза, за счет концентрирования. Значение содержания НБА снижается на 15%. Значение эффективной вязкости в коровьем и козьем молоке увеличивалось в среднем на 15% относительно исходных значений.

Таблица 28 – Влияние мембранных способов обработки на состав сырого молока и молочных продуктов

Наименование образца	Массовая доля белка,%	Содержание СБ,%	Содержание КБ,%	Содержание НБА,%	Эффективная вязкость, Па·с
Коровье молоко сырое	3,26±0,06	0,78±0,08	2,48±0,03	0,031±0,003	$1{,}8\cdot10^{-3}$
Концентрированное коровье молоко	5,07±0,10	1,00±0,08	4,07±0,04	0,027±0,005	$2{,}1\cdot10^{-3}$
Козье молоко сырое	3,53±0,06	0,85±0,08	2,70±0,04	0,041±0,004	$2{,}1\cdot10^{-3}$
Концентрированное козье молоко	5,35±0,10	1,20±0,07	4,03±0,05	0,033±0,006	$2{,}4\cdot10^{-3}$

Анализируя результаты исследований (таблица 28) установлено, что если в молоке сырье изначально повышенное содержание НБА, то мембранные способы обработки позволяют снижать его значения в готовом продукте, что в свою очередь улучшает качество продукта.

Массовая доля белка в контрольном йогурте, согласно ГОСТ 31981-2013 составляет не менее 3,2% [33]. Из анализа таблицы 29 видно, что массовая доля белка в йогуртах из коровьего и козьего молока составила 5,52% и 5,54%, соответственно, что на 70% выше контрольного значения. Эффективная вязкость в йогурте из концентрированного коровьего молока увеличилась по сравнению с контролем на 30%, а в йогурте из концентрированного козьего молока – на 70%.

Таблица 29 – Влияние мембранных способов обработки на состав йогурта

Наименование показателя	Наименование образца		
	йогурт контроль	йогурт из концентрированного коровьего молока	йогурт из концентрированного козьего молока
Массовая доля белка,%	3,26±0,06	5,52±0,15	5,54±0,16
Содержание СБ,%	0,58±0,08	0,65±0,07	0,75±0,07
Содержание КБ,%	2,70±0,03	4,87±0,04	4,80±0,04
Содержание НБА,%	0,0303±0,003	0,0315±0,004	0,0398±0,005
Эффективная вязкость, Па·с	0,85	1,13	1,47

В связи с тем, что массовая доля белка в йогурте является нормированным значением, то было рассмотрено влияние структурно-механических характеристик на белковый состав, а именно содержание СБ в готовом продукте и их сохранность при искусственном разрушении сгустка продукта. В ходе проведения эксперимента установлена зависимость содержания СБ от структурно-механических характеристик (таблица 30). Согласно полученным результатам, регрессионная зависимость изменения ЭВ йогурта, выработанного из концентрированного коровьего и козьего молока, позволяет понять степень разрушения продукта (СР) при определённой скорости сдвига, которая имеет вид:

$$\text{СР} = \frac{\eta}{\gamma} \cdot 100 \qquad (15)$$

где η- эффективная вязкость, Па·с; γ-скорость сдвига, $с^{-1}$

Таблица 30 – Влияние структурно-механических характеристик на содержание сывороточных белков в йогурте из концентрированного молока

Скорость сдвига, $с^{-1}$	Йогурт из концентрированного коровьего молока		Йогурт из концентрированного козьего молока	
	Степень разрушения, %	Содержание СБ,%	Степень разрушения, %	Содержание СБ,%
5	23,0	0,65	33,0	0,75
10	8,0	0,65	11,0	0,75
20	4,0	0,62	4,0	0,73
30	2,0	0,62	3,0	0,72
40	1,0	0,60	2,0	0,70
50	0,07	0,59	1,0	0,68
60	0,04	0,56	0,07	0,65
70	0,02	0,55	0,05	0,63
80	0,01	0,55	0,03	0,62
90	менее 0,01	0,54	0,01	0,60

При увеличении скорости сдвига до 90 $с^{-1}$ содержание СБ снижается на 16-20% при этом степень разрушения составляет менее 0,01%. Снижение содержания СБ связано с таким явлением как синерезис. Делаем вывод, что разработанная МИ содержания СБ способна определить изменения в белковом составе, что важно для технологических процессов на производстве.

На основании проведенных исследований была выбрана матрица, где X – скорость сдвига, X1 – степень разрушения продукта, а Y – значение содержания сывороточных белков. Получены уравнения регрессии, отражающие зависимости изменения содержания СБ. Статистическую значимость уравнений проверили с помощью коэффициента детерминации и критерия Фишера (таблица 31).

Установили, что полученная величина R свидетельствует о том, что фактор X существенно влияет на Y. Чаще всего, давая интерпретацию коэффициента детерминации, его выражают в процентах, т.е. в 96,67% случаев изменения X приводило к изменению Y. Другими словами - точность подбора уравнения регрессии - высокая. Остальные 3,33% изменения Y объясняются факторами, не учтенными в данной модели (а также ошибками спецификации). В нашем примере связь между признаком Y и фактором X весьма высокая и обратная.

Что касается фактора X1, то при изменении X1 на 1%, Y изменится менее чем на 1%. Другими словами - влияние X1 на Y не существенно. Коэффициент детерминации в 51,08% случаев изменения X1 приводят к изменению Y. Следовательно, точность подбора уравнения регрессии - средняя. Остальные 48,92% изменения Y объясняются факторами, не учтенными в данной модели. Проведенный анализ подтвердил адекватность полученных моделей.

Таблица 31 – Результаты дисперсионного и корреляционного анализа

Влияющий фактор	Уравнение регрессии	Коэффициент детерминации, R^2	Коэффициент корреляции, R	Критерий Фишера, F
Скорость сдвига, $с^{-1}$	y = -0,00139 x + 0,656	0,96	0,98	232,5
Степень разрушения продукта,%	y = 0,00413 x + 0,577	0,51	0,71	8,3

На рисунке 29 при исследовании эффективной вязкости образцов йогурта можно выделить две зоны разрушения структуры: 1-я – зона стремительного разрушения структуры йогурта (при скорости вращения шпинделя от 5 до 20 об/мин); 2-я – зона затухающей скорости разрушения структуры йогурта (от 20 об/мин и выше) с последующим переходом в зону с постоянной эффективной вязкостью. В первой зоне значения ЭВ уменьшаются в 2 раза, а во второй – более чем в 5 раз, что происходит главным образом с возрастанием скорости сдвига.

При оценке влияния скорости сдвига на значения эффективной вязкости йогурта отметили ее снижение в среднем от 50% до 90%.

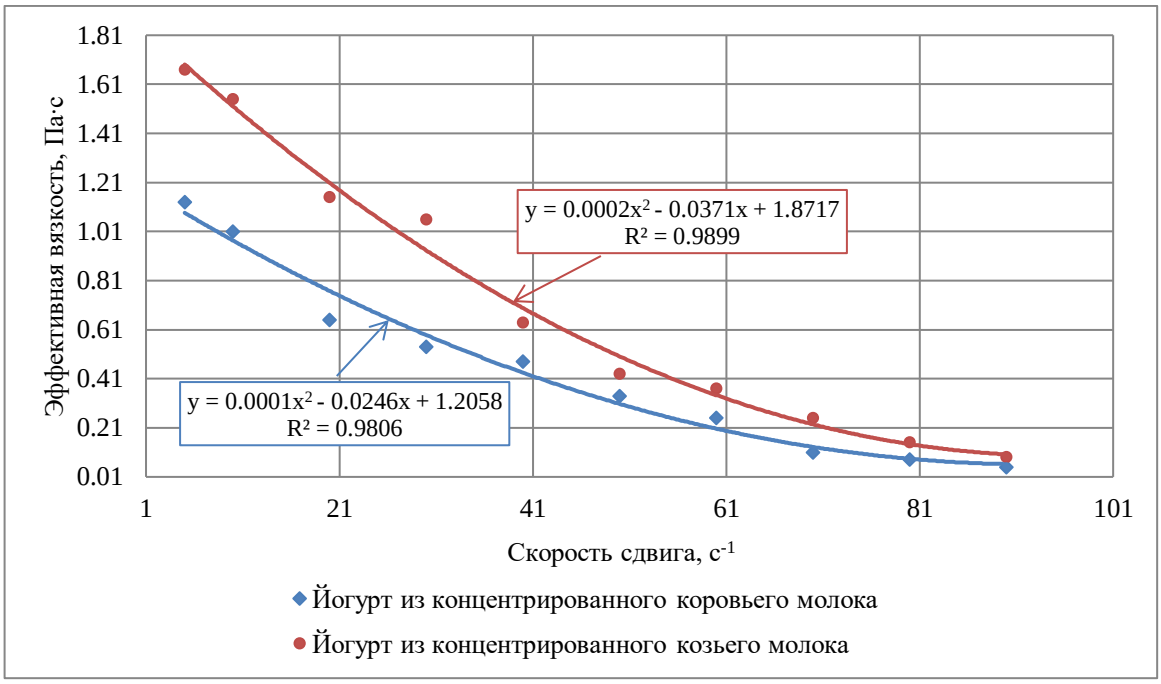


Рисунок 29 –Эффективная вязкость образцов йогурта при разных скоростях сдвига от 5 об/мин до 90 $с^{-1}$

Мембранная обработка не повлияла на процедуру пробоподготовки разработанных МИ содержания сывороточных белков и небелкового азота. Полученные результаты исследований подтверждают влияние метода мембранной обработки на состав, как сырого молока, так и готового продукта. Выявили зависимость повышения содержания массовой доли белка, сывороточных и казеиновых белков в зависимости от фактора концентрирования.

Эффективная вязкость после мембранной обработки увеличивалась как в молочном сырье, так и в готовом продукте.

5.3 Изучение влияния продолжительности хранения на состав сырого молока разных сельскохозяйственных животных

Для проведения исследований по продолжительности хранения был проведен ряд экспериментов, где сырое молоко хранилось в условиях бытового холодильника при температуре (4±2)°С. В пробах сырого молока контролировали белковый состав (массовая доля ОБ, содержание ОА, СБ, НБА и КБ), минеральный состав (хлориды, фосфаты, сульфаты, цитраты, кальций, фосфор), физико-химические показатели (кислотность, мочевина) и показатель общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ). Измерения установленных показателей в сыром молоке проводили сразу после доставки и в процессе хранения в течение 24, 48 и 72 ч.

Данные, представленные в таблице 32, показывают изменение белкового состава в коровьем, козьем и овечьем сыром молоке в процессе хранения. При хранении молока сырого в течение 72 часов массовая доля общего белка остается на одном уровне значений, в то время как содержание небелкового азота, сывороточных и казеиновых белков изменялось. После 72 часов хранения во всех исследованных образцах сырого молока наблюдалось повышение содержания сывороточных белков. В коровьем и овечьем молоке содержание СБ повысилось относительно контрольного образца на 5% и 6%, соответственно. В козьем молоке содержание сывороточных белков начало повышаться уже после 48 часов хранения на 3,7 %, после 72 часов – на 10 %. Содержание казеиновых белков в коровьем, козьем и овечьем молоке в среднем снизилось на 1-2 %. При длительном хранении у всех видов молочного сырья происходит значительное повышение содержания небелкового азота. В козьем молоке после 48 часов хранения содержание НБА увеличилось на 18%. После 72 часов хранения значение содержания НБА в козьем молоке возросло еще сильнее на 28%. В коровьем и овечьем молоке значительное повышение содержания НБА наблюдалось после 72 часов хранения на 14%.

Таблица 32 – Изменение белкового состава коровьего, козьего и овечьего сырого молока в процессе хранения

Наименование показателя	Продолжительность хранения при температуре (4±2)°С, ч			
	фон	24	48	72
Коровье сырое молоко				
Массовая доля белка, %	3,20±0,11	3,19±0,10	3,21±0,12	3,22±0,15
Содержание ОА,%	0,501±0,030	0,500±0,030	0,503±0,030	0,504±0,030
Содержание НБА,%	0,034±0,006	0,034±0,006	0,036±0,007	0,039±0,006
Содержание СБ,%	0,77±0,07	0,77±0,08	0,79±0,08	0,81±0,09
Содержание КБ,%	2,44±0,04	2,43±0,05	2,41±0,05	2,40±0,05
Козье сырое молоко				
Массовая доля белка,%	3,79±0,12	3,80±0,13	3,80±0,12	3,81±0,14
Содержание ОА,%	0,595±0,030	0,596±0,030	0,596±0,030	0,597±0,030
Содержание НБА,%	0,038±0,007	0,038±0,007	0,045±0,008	0,046±0,008
Содержание СБ,%	0,80±0,09	0,80±0,08	0,83±0,09	0,89±0,10
Содержание КБ,%	3,01±0,05	3,01±0,05	2,98±0,06	2,95±0,06
Овечье сырое молоко				
Массовая доля белка,%	5,71±0,13	5,71±0,12	5,71±0,14	5,72±0,15
Содержание ОА,%	0,895±0,030	0,895±0,030	0,895±0,030	0,896±0,030
Содержание НБА,%	0,035±0,008	0,035±0,007	0,038±0,008	0,040±0,009
Содержание СБ,%	1,61±0,11	1,62±0,10	1,64±0,11	1,69±0,12
Содержание КБ,%	4,10±0,05	4,10±0,06	4,09±0,05	4,04±0,07

На основании проведенных исследований была выбрана матрица, где X – продолжительность хранения, а Y – значение содержания небелкового азота, Y1 – значение содержания сывороточных белков. Получены уравнения регрессии, отражающие зависимости изменения содержания НБА и СБ (таблицы 33, 34).

Статистическую значимость уравнений проверили с помощью коэффициента детерминации и критерия Фишера, рассчитали t-критерий Стьюдента на уровне значимости α=0,05, изучили зависимость Y, Y1 от X.

Ошибка аппроксимации находилась в пределах 5% - 7%, что свидетельствует о хорошем подборе уравнения регрессии к исходным данным. Коэффициент корреляции принимал значения $0,9 < R < 1$, поэтому в нашей модели связь между признаками Y , Y1 и фактором X высокая и прямая. По полученным коэффициентам детерминации установили, что точность подбора

уравнения регрессии - высокая. Установили, что полученные параметры модели статистически значимы.

Таблица 33 – Результаты дисперсионного и корреляционного анализа для НБА

Влияющий фактор	Уравнение регрессии	Коэффициент детерминации, R^2	Коэффициент корреляции, R	Критерий Фишера, F
Коровье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 6,1E-5 x + 0,0335	0,94	0,97	52,2
Козье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 8,2E-5 x + 0,0385	0,82	0,91	14,18
Овечье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 4,6E-5 x + 0,0351	0,84	0,92	15,53

Таблица 34 – Результаты дисперсионного и корреляционного анализа для СБ

Влияющий фактор	Уравнение регрессии	Коэффициент детерминации, R^2	Коэффициент корреляции, R	Критерий Фишера, F
Коровье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 0,000387 x + 0,77	0,87	0,93	20,29
Козье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 0,000794 x + 0,798		0,91	13,49
Овечье молоко сырое				
Продолжительность хранения, ч	y = 0,000754 x + 1,61	0,89	0,94	24,63

Все изменения, происходящие с белковым составом в процессе хранения, имеют научное объяснение. В таблице 35 приведены результаты исследований изменения общей бактериальной обсемененности, содержания мочевины и кислотности в процессе хранения. Анализируя полученные данные, установили, что повышение содержания небелкового азота зависит от следующих факторов. В первую очередь, от общей бактериальной обсемененности, которая в процессе хранения при низкой температуре значительно повышается. У коровьего молока сырого изменения протекают плавно. Из таблицы 35 видно, что повышение кислотности и КМАФАнМ происходит на протяжении всего срока хранения, особенно активно после 72 часов хранения, что составило $1{,}2 \cdot 10^5$ КОЕ/см^3. В

козьем и овечьем сыром молоке достаточно активно протекают изменения. После 72 часов хранения содержание КМАФАнМ у козьего молока составило $1,6 \cdot 10^6$ КОЕ/см^3, а у овечьего - $5,0 \cdot 10^5$ КОЕ/см^3.

Таблица 35 – Изменение общей бактериальной обсемененности, мочевины и кислотности коровьего, козьего, овечьего сырого молока в процессе хранения

Наименование показателя	Продолжительность хранения при температуре (4±2)°С, ч			
	фон	24	48	72
Коровье сырое молоко				
КМАФАнМ*, КОЕ/см^3	$1,6 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$	$5,0 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$
Кислотность, °Т	16,0 ± 0,5	16,5 ± 0,5	17,6 ± 0,6	18,0 ± 0,6
Содержание мочевины, мг%	29,1 ± 0,81	29,1 ± 0,80	30,2 ± 0,85	33,5 ± 0,87
Козье сырое молоко				
КМАФАнМ*, КОЕ/см^3	$3,0 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^6$
Кислотность, °Т	17,5 ± 0,6	18,0 ± 0,5	18,7 ± 0,6	19,5 ± 0,6
Содержание мочевины, мг%	40,5 ± 2,05	40,4 ± 2,03	48,2 ± 2,03	52,8 ± 2,5
Овечье сырое молоко				
КМАФАнМ*, КОЕ/см^3	$1,4 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$
Кислотность, °Т	20,3 ± 0,6	20,8 ± 0,7	21,4 ± 0,6	22,5 ± 0,7
Содержание мочевины, мг%	38,2 ± 3,15	38,4 ± 3,11	40,1 ± 3,11	45,3 ± 3,13
*- количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов				

Второй влияющий фактор – кислотность. У всех видов молока сырого после 72 часов хранения значение кислотности повысилось в среднем на 12%. И последний влияющий фактор – содержание мочевины. В ходе выполнения работы в Главе 4 была отмечена зависимость содержания НБА от содержания мочевины. В таблице 35 эта зависимость снова нами подтверждается. Наблюдаем, что после 72 часов хранения содержание мочевины увеличилось в коровьем молоке на 15%, в козьем – на 30% и в овечьем – на 18,5%. Данное изменение содержания можно отметить как незначительное, но если рассматривать НБА как комплекс соединений, состоящий из аммиака, мочевины, оротовой кислоты и других соединений, то при увеличении содержания мочевины в молоке сыром ее содержание увеличится в дальнейшем и в готовом продукте. Это приводит к значительным изменениям белкового состава и образованию продуктов гидролиза белка, в частности количества пептидов, свободных аминокислот.

Оценивая солевой состав молока сырого как свежего, так и в процессе хранения было установлено, что значительным колебаниям подвергаются такие анионы, как хлориды, фосфаты и цитраты. Наблюдалось плавное увеличение содержания фосфатов и цитратов на протяжении всего периода хранения на 10% и 7%, соответственно. Незначительно снижалось содержание хлоридов на 5%. Значения сульфатов оставалось без изменений.

На рисунках 30 – 32 графически изображены изменения солевого состава в сыром молоке разных сельскохозяйственных животных в процессе хранения.

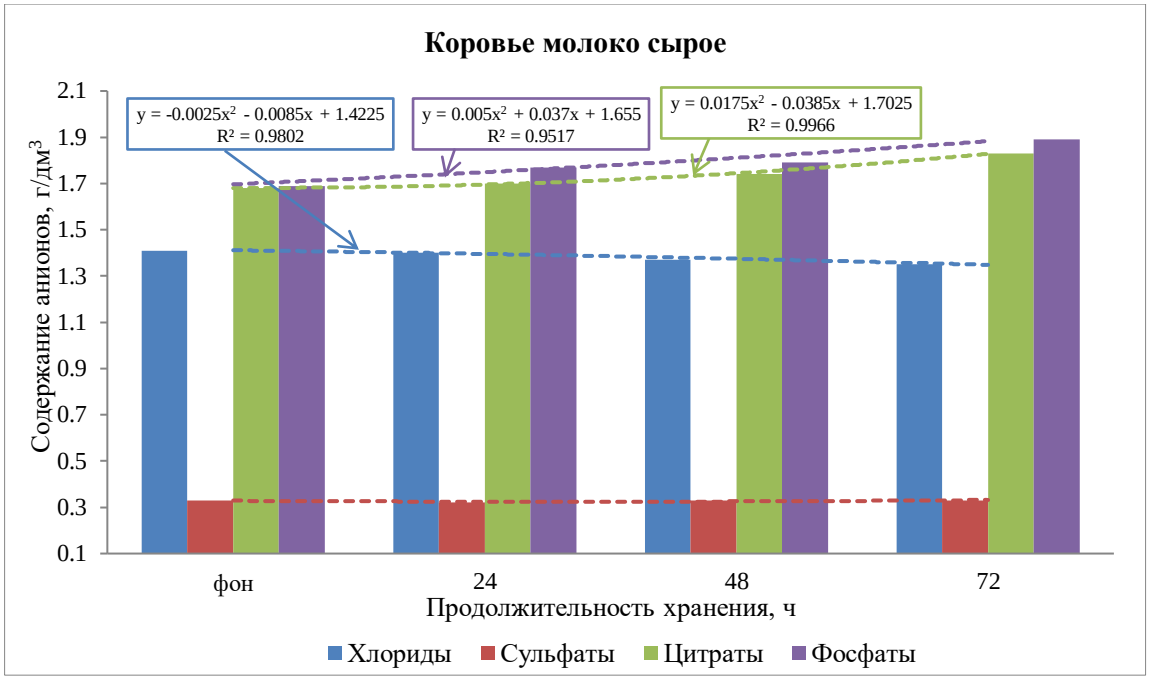


Рисунок 30 – Изменение солевого состава коровьего молока сырого в процессе хранения

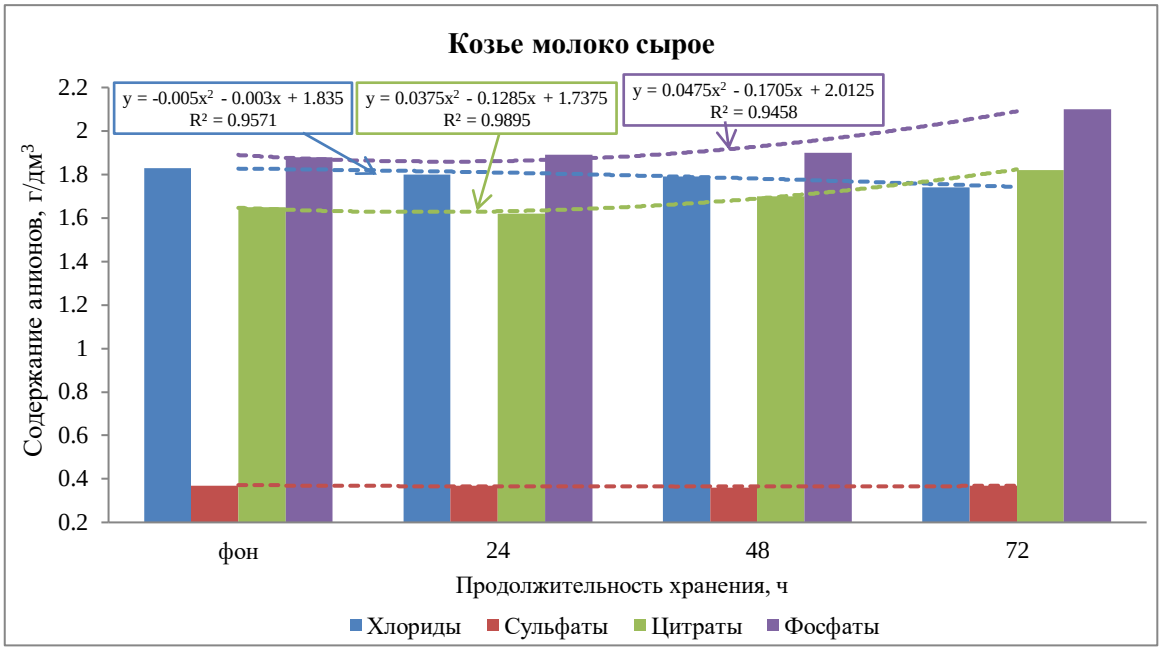


Рисунок 31 – Изменение солевого состава козьего молока сырого в процессе хранения

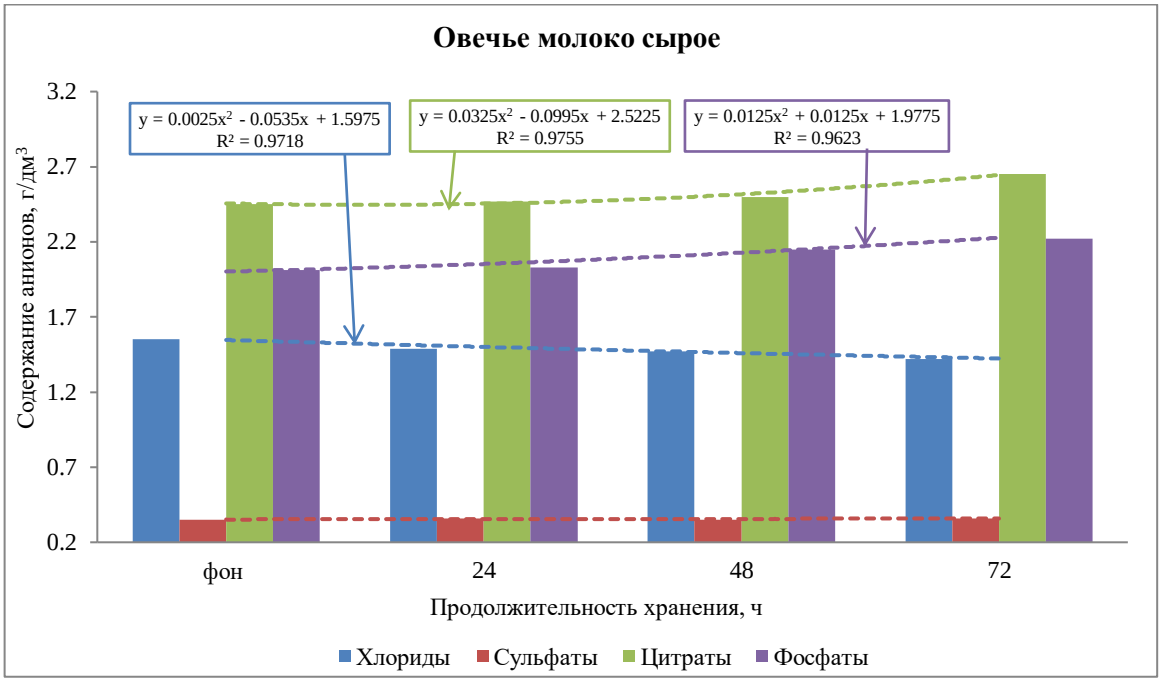


Рисунок 32 – Изменение солевого состава овечьего молока сырого в процессе хранения

Помимо солевого состава сырого молока разных сельскохозяйственных животных, изучили изменение содержания кальция и фосфора разного молочного сырья в процессе хранения (таблица 36).

Таблица 36 – Изменение содержания кальция и фосфора в коровьем, козьем, овечьем молоке сыром в процессе хранения

Наименование показателя	Продолжительность хранения при температуре (4±2)°С, ч			
	фон	24	48	72
Коровье сырое молоко				
Содержание кальция, мг/100г	122,5±0,11	122,45±0,12	121,7±0,11	120,0±0,13
Содержание фосфора, мг/100г	82,2±0,12	82,1±0,13	82,0±0,13	80,15±0,12
Козье сырое молоко				
Содержание кальция, мг/100г	133,1±0,12	133,1±0,14	132,5±0,13	130,2±0,12
Содержание фосфора, мг/100г	95,3±0,13	95,2±0,14	94,8±0,13	92,0±0,12
Овечье сырое молоко				
Содержание кальция, мг/100г	161,7±0,13	161,7±0,14	159,8±,12	157,2±0,13
Содержание фосфора, мг/100г	101,2±0,14	101,2±0,13	100,3±0,15	99,7±0,14

Анализ данных таблицы 36 говорит о том, что в период хранения 24 часа у коровьего, козьего и овечьего молока сырого значительных изменений содержания кальция и фосфора не наблюдается. В период хранения 48-72 часа в сыром молоке разных видов сельскохозяйственных животных изменяется значение pH, что приводит к снижению содержания кальция в среднем на 2-3%, содержания фосфора - в среднем на 2-4%.

При низкой температуре в процессе хранения, согласно полученным результатам исследования, происходит перераспределение солей в части содержания растворимых форм кальция и солевых остатков. Часть кальция и фосфора при повышении кислотности и КМАФАнМ из коллоидной формы, связанной с казеином, переходит в растворимое состояние, объясняя тем самым снижение казеиновых белков, кальция и фосфора после 72 часов хранения. Повышение содержания фосфатов и цитратов объясняется тем, что фосфаты и цитраты из коллоидной формы переходят в инно-молекулярное состояние и образуют комплекс, который можно назвать как фосфат-цитратный комплекс.

Исходя из полученных результатов исследований можно сделать вывод, что при низких положительных температурах хранения молока сырого происходят необратимые изменения белковой фракции, в частности казеиновой фракции, которая теряет свойства образовывать сгусток за счет снижения содержания растворимого кальция, ККФК образуется хуже, что влечет за собой изменения

технологических свойств молока. В первую очередь, увеличивается продолжительность сычужного свертывания молока и снижается качество получаемых сгустков. Все это, в свою очередь, отражается на качестве готового продукта. По микробиологическим показателям при продолжительности хранения более 48 часов молоко в соответствии с нормативной документацией становится не сортовым и непригодным для дальнейшей переработки. Поэтому предпочтительно в течение первых 24 часов проанализировать образцы сырого молока, чтобы уменьшить риски изменения состава молока.

В козьем и овечьем молоке более выражены белковые изменения, которые быстрее активизируют процесс гидролиза белка, что приводит к скорейшей порче молока, а именно к снижению его хранимоспособности. Вероятно, это обусловлено процессами протеолиза в сыром молоке, вызванными как ферментами, так и гидролизом белка при нарастании кислотности.

5.4 Изучение влияния продолжительности хранения на состав молочных продуктов

Для проведения исследований по продолжительности хранения молочных продуктов использовали:

- ультрапастеризованное молоко (УВТ-молоко) с массовой долей жира 3,2%;
- йогурт с массовой долей жира 2,5%.

Был проведен ряд экспериментов, где для каждого вида молочных продуктов были соблюдены соответствующие условия. УВТ-молоко хранили при температуре (20±2)˚С в течение 1, 2, 3 и 4 месяцев. Йогурт хранили в условиях бытового холодильника при температуре (4±2)°С в течение 30 дней.

В исследуемых образцах контролировали белковый состав (массовая доля ОБ, содержание ОА, СБ, НБА, КБ и ИБ), минеральный состав (хлориды, фосфаты, сульфаты, цитраты, кальций, фосфор), титруемую и активную кислотность.

Проанализировав таблицу 37, наблюдаем похожие тенденции изменения белкового состава в образцах УВТ-обработанного молока, как и в образцах сырого молока в процессе хранения (таблица 32). Определили, что происходят незначительные изменения содержания сывороточных и казеиновых белков. Содержание сывороточных белков после 4 месяцев хранения повышаются на 9%, в то время как содержание казеиновых белков снижается на 3%. Содержание НБА относительно фонового значения возросло на 20%. Возрастание НБА в процессе хранения продукта может быть обусловлено нарастанием активной кислотности в продукте. Также, исходя из литературных источников [5,10,11,84,85,136], возрастание НБА может быть связано с нарастанием аммиака в продукте и появлением продуктов гидролиза в процессе хранения.

Значение массовой доли белка в исследованных образцах оставалось неизменным, но содержание НБА влияет на содержание истинного белка, изменение которого составило около 1% в зависимости от продолжительности хранения.

Таблица 37 – Изменение белкового состава молока ультрапастеризованного в процессе хранения

Наименование показателей	Продолжительность хранения при температуре (20±2)°С, месяц				
	фон	1	2	3	4
Массовая доля белка, %	3,08±0,12	3,07±0,13	3,07±0,12	3,07±0,11	3,08±0,12
Содержание ОА,%	0,483±0,005	0,481±0,004	0,481±0,004	0,481±0,005	0,483±0,005
Содержание НБА,%	0,024±0,004	0,025±0,004	0,025±0,004	0,028±0,004	0,029±0,004
Содержание СБ, %	0,72±0,08	0,74±0,09	0,74±0,09	0,78±0,08	0,79±0,08
Содержание КБ, %	2,36±0,10	2,33±0,11	2,34±0,10	2,29±0,11	2,29±0,11
Содержание ИБ,%	2,92±0,11	2,91±0,10	2,91±0,11	2,89±0,12	2,89±0,11
Кислотность, ˚Т	16,5±0,5	17,0±0,5	17,7±0,6	18,5±0,6	20,0±0,5
Активная кислотность (pH), ед.	6,82±0,07	6,80±0,06	6,79±0,07	6,75±0,07	6,73±0,06

Результаты исследований подтвердили, что снижение содержания казеиновых белков напрямую связано с минеральным составом молока. На рисунках 33 – 36 отражено изменение солевого состава УВТ-молока в процессе хранения. Наибольшим изменениям подвержены фосфаты и цитраты, их количество увеличилось на 30% и 20%, соответственно. В УВТ-молоке подтверждается наша гипотеза, что в зависимости от продолжительности

хранения фосфаты и цитраты из коллоидной формы переходят в инно-молекулярное состояние и образуют фосфат-цитратный комплекс.

Содержание хлоридов снизилось в среднем на 7%. Сульфаты, так же, как и в сыром молоке, оставались на одном уровне значений. На солевой состав оказывает влияние активная кислотность, которая растет в процессе хранения на 2%, тем самым вызывая перераспределение солей.

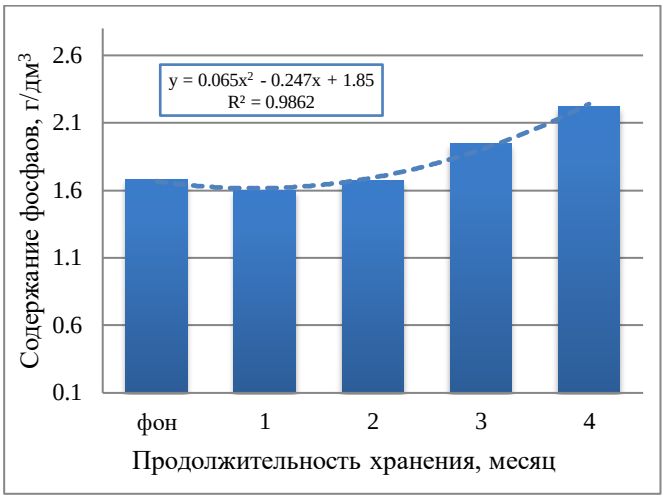


Рисунок 33 – Изменение содержания фосфатов в УВТ-молоке в процессе хранения

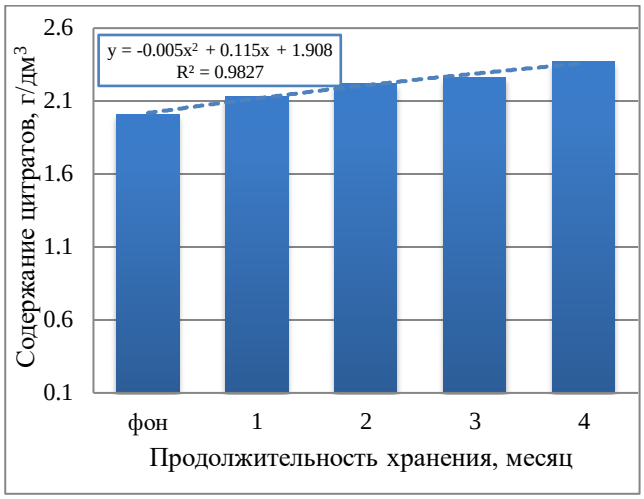


Рисунок 34 – Изменение содержания цитратов в УВТ-молоке в процессе хранения

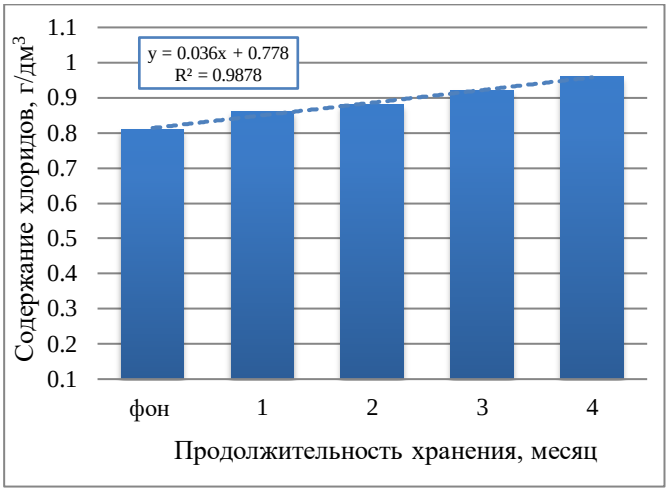


Рисунок 35 – Изменение содержания хлоридов в УВТ-молоке в процессе хранения

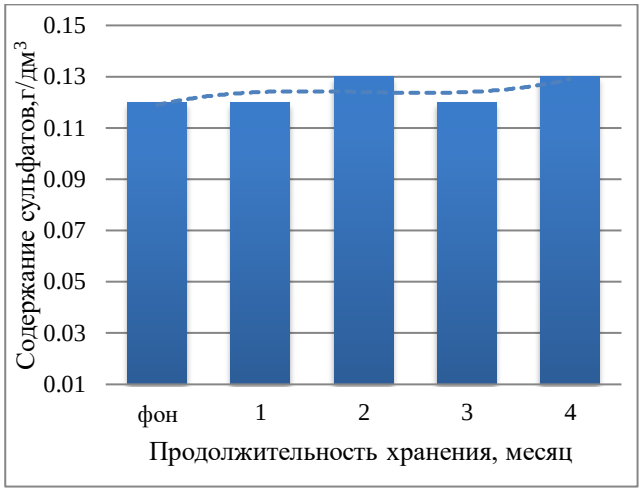


Рисунок 36 – Характер изменения содержания сульфатов в УВТ-молоке в процессе хранения

В период хранения 1-2 месяца значительных изменений в содержании кальция и фосфора не наблюдается. В то время как в период хранения 3-4 месяца содержание кальция и фосфора снижается на 6% и 7%, соответственно (рис.37)

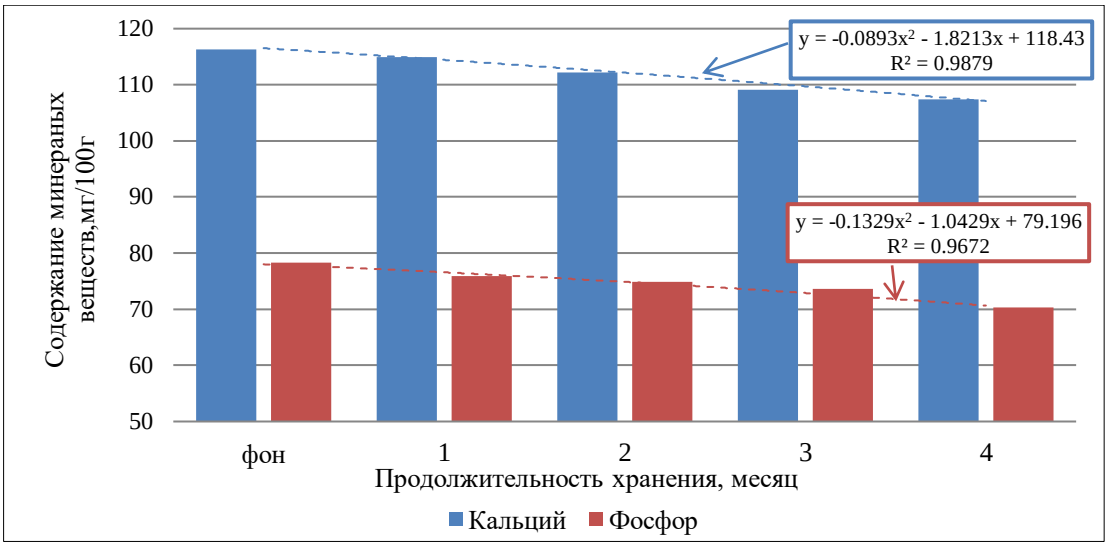


Рисунок 37 – Изменение содержания кальция и фосфора в УВТ-молоке в процессе хранения

Исследования в образцах йогурта проводили через каждые 5 дней. В процессе длительного хранения получили следующие результаты исследования по белковому составу йогурта, представленные в таблице 38. Установили, что значение массовой доли белка не менялось в процессе хранения и оставалось на одном уровне значений в отличие от ИБ. Содержание истинного белка также как в сыром молоке, так и в УВТ-обработанном молоке снижалось в зависимости от содержания НБА в образцах. В случае с йогуртом содержание ИБ снижалось на 2,5%. Изменялось содержание сывороточных и казеиновых белков. Определили, что содержание СБ в процессе хранения повышалось на 23%, при этом содержание КБ снижалось на 8%. Значения НБА относительно фонового значения повысились на 22%, что объясняется повышением титруемой и активной кислотности.

Темп повышения титруемой кислотности у исследуемых образцов через каждые 5 дней составлял 1-2˚Т. По сравнению с фоновым значением, титруемая кислотность йогурта увеличилась на 17%, соответственно, что является нормой

для таких кисломолочных продуктов и свидетельствует о соблюдении температурных режимов хранения образцов.

Таблица 38 - Изменение белкового состава йогурта в процессе хранения

Наименование показателей	Продолжительность хранения при температуре (4±2)°С, дни					
	фон	5	10	15	21	30
Массовая доля белка, %	3,36±0,11	3,34±0,12	3,34±0,12	3,35±0,11	3,35±0,13	3,34±0,12
Содержание ОА,%	0,527±0,008	0,524±0,009	0,524±0,009	0,525±0,008	0,525±0,009	0,524±0,009
Содержание НБА,%	0,045±0,007	0,047±0,006	0,048±0,006	0,048±0,006	0,052±0,007	0,055±0,007
Содержание СБ, %	0,95±0,06	0,96±0,07	0,99±0,07	1,02±0,06	1,03±0,07	1,17±0,07
Содержание КБ, %	2,40±0,11	2,37±0,10	2,33±0,09	2,31±0,10	2,29±0,09	2,19±0,10
Содержание ИБ,%	3,07±0,10	3,04±0,12	3,04±0,12	3,04±0,10	3,01±0,11	2,99±0,12
Кислотность, °Т	67,0±0,8	69,4±0,9	73,1±0,8	75,4±0,9	77,0±0,8	78,8±0,8
Активная кислотность (pH), ед.	4,83±0,08	4,82±0,09	4,80±0,09	4,79±0,09	4,76±0,08	4,70±0,09

Оценивая солевой состав йогурта в процессе хранения было установлено, что значительным колебаниям подвергались такие анионы как: фосфаты, цитраты и хлориды. На рисунках 38 – 41 отражено изменение солевого состава йогурта в процессе хранения.

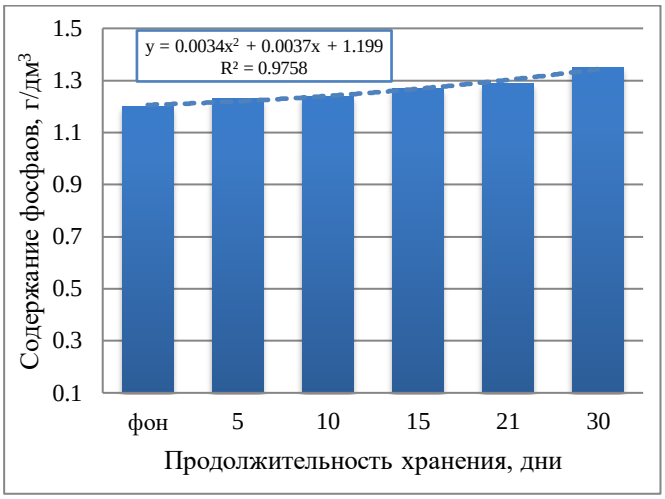


Рисунок 38 – Изменение содержания фосфатов в йогурте в процессе хранения

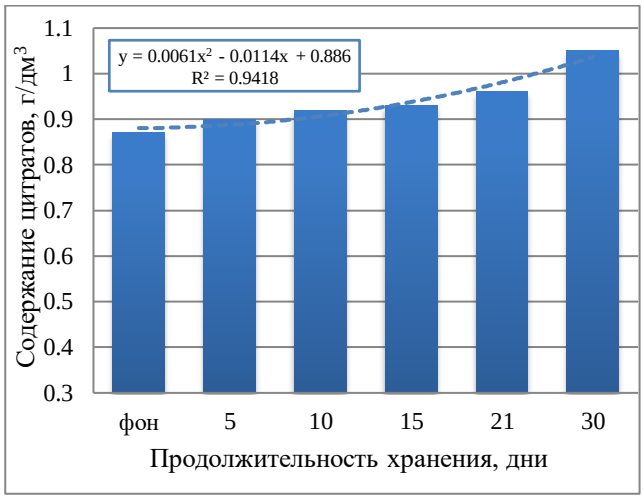


Рисунок 39 – Изменение содержания цитратов в йогурте в процессе хранения

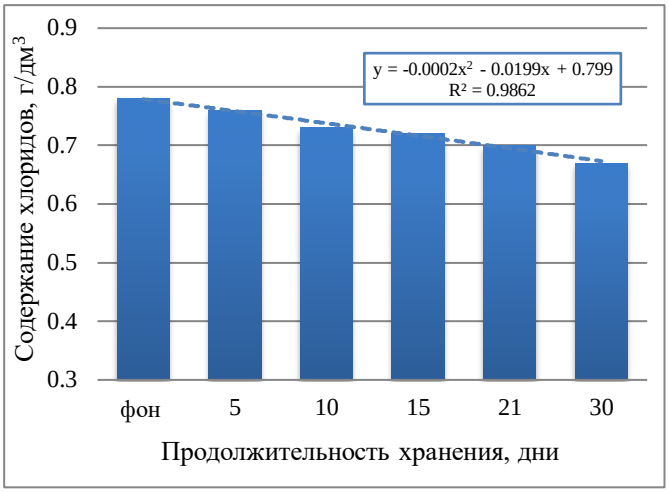


Рисунок 40 – Изменение содержания хлоридов в йогурте в процессе хранения

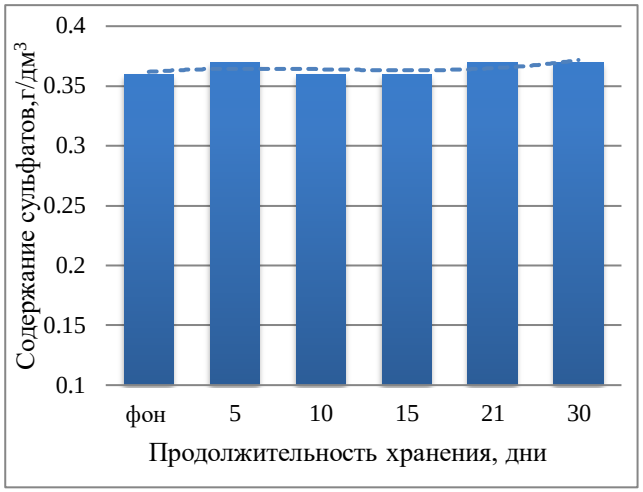


Рисунок 41 – Характер изменения содержания сульфатов в йогурте в процессе хранения

В первую очередь отмечено увеличение содержания фосфатов и цитратов по сравнению с фоновым значением на 10%. Содержание хлоридов снижалось на 7%. Сульфаты оставались практически на одном уровне значений.

Следующим этапом работы было изучить изменение содержания кальция и фосфора в исследуемых образцах в процессе хранения, так как кальций, как основной макроэлемент молока связан с казеиновой фракцией (как в органической, так и минеральной форме) и от его количества, согласно литературным источникам [10,11,84,85,136,144], зависит размер мицеллы казеина. Таким образом, содержание этих элементов тесно коррелирует с более высокой концентрацией казеина в продукте. Исходя, из проведенного эксперимента наблюдается снижение содержания кальция и фосфора на 5% и 3%, соответственно (рис.42)

Исходя из полученных результатов, делаем вывод, что в процессе хранения йогурта происходит изменение структуры белка, в частности снижалось содержание казеиновых белков, а соответственно и казеинаткальцийфосфатного комплекса. Так как кальций и фосфор являются важными структурными элементами комплекса, то их переход в раствор дополнительно дестабилизирует казеиновые мицеллы.

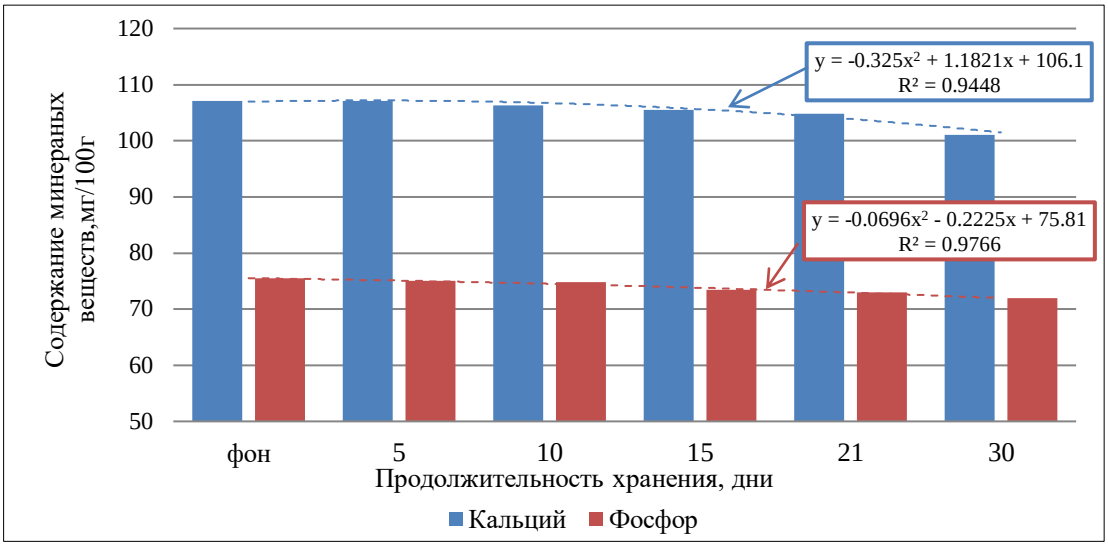


Рисунок 42 – Изменение содержания кальция и фосфора в йогурте в процессе хранения

Проведенные исследования позволили отметить важность оценки белкового и солевого состава, как в молоке сырье, так и в молочных продуктах и в первую очередь для получения продукта гарантированного качества. Исходя из полученных результатов исследования, даже при хранении молочных продуктов при низких положительных температурах происходят необратимые изменения белковой фракции и солевого состава, которые влекут за собой изменения органолептических свойств, а следовательно, и качества продукта. Данные исследования позволили сформировать ряд необходимых факторов оценки молока сырья, в частности важности определения КБ и СБ, а также небелкового азота, чтобы можно было прогнозировать хранимоспособность готового продукта. Установленное влияние солевого состава на сохранность продукта позволило определить влияющие факторы и диапазоны значений содержания фосфатов, цитратов и хлоридов в молоке сырье.

ВЫВОДЫ

1. Определены основные показатели идентификации и оценки качества молочного сырья с учетом требований технических регламентов Таможенного Союза (ТР ТС 021/2011, ТР ТС 033/2013), научной и патентной литературы: массовая доля белка, содержание сывороточных и казеиновых белков, содержание небелкового азота, содержание кальция и фосфора.

2. Разработана методика измерений содержания сывороточных белков с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах. Установлены диапазоны определения содержания сывороточных белков в молоке сыром и молочных продуктах от 0,3 до 8 %, в сухих молочных консервах от 2 до 30 %, концентраты сывороточных белков от 10 до 80 %. На основе полученных результатов исследований разработан проект ГОСТ «Молоко и молочные продукты. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля», который позволяет осуществлять контроль по данному параметру и идентификацию белкового состава. Определение добавленных фальсифицирующих компонентов разработанной МИ возможно от 10% и более.

3. Осуществлена модификация методики измерений содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля в молоке сыром и молочных продуктах. Модификация методики измерений заключалась в расширении области её применения, а также в усовершенствовании процедуры пробоподготовки и уточнении применяемой формулы расчета НБА для повышения точности и достоверности. Установлены диапазоны определения содержания небелкового азота от 0,005 до 5 %. На основе полученных результатов разработан проект ГОСТ «Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля».

4. На основании проведенной комплексной оценки белкового состава коровьего, козьего и овечьего сырого молока с применением разработанных МИ определены нормы содержания небелкового азота для козьего молока не более 0,044%, для овечьего – не более 0,040%. Установлены диапазоны содержания

сывороточных белков и белков казеиновой фракции в овечьем и козьем молоке. Для козьего молока содержание сывороточных белков составило от 0,78 до 0,95%, казеиновых белков – от 2,30 до 3,00%. Для овечьего молока содержание сывороточных белков составило от 1,60 до 1,93%, казеиновых белков – от 3,20 до 4,00 %. Определены значения эффективной вязкости: для козьего молока - 1,9·10-3Па·с; для овечьего молока - 2,4·10-3Па·с.

5. Установлено влияние температурной и баромембранной обработки на белковый состав молока сырого и молочных продуктов. В зависимости от продолжительности температурной обработки наблюдалось снижение содержания сывороточных белков на 15 - 40%. Содержание казеиновых белков и небелкового азота повышалось на 5 - 10% и на 10 - 33%, соответственно. Определено снижение содержания НБА в молоке при мембранном способе обработки на 10 - 15%, что позволит регулировать содержание НБА в готовом продукте и соответственно, улучшать его качество.

Отмечено влияние продолжительности хранения на белковый состав молока сырого и молочных продуктов. В процессе хранения в сыром молоке увеличивается содержание сывороточных белков на 4 - 6%, в молочных продуктах на 9 - 23%. Содержание казеиновых белков в сыром молоке снижается на 1 - 3%, в молочных продуктах – на 3 - 8%. Значение содержания НБА повышалось на 10 - 20% как в сыром молоке, так и в молочных продуктах.

6. Проведена апробация разработанных методик измерений белкового состава молока сырого и молочных продуктов при производственном контроле на перерабатывающем предприятии ОАО «Брянский Молочный Комбинат». Методики измерений содержания небелкового азота и сывороточных белков методом Кьельдаля внедрены в производственный контроль ОАО "Брянский Молочный Комбинат".

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБ – истинный белок;

ИЭТ – изоэлектрическая точка;

ККФК – казеинаткальцийфасфатный комплекс;

КБ – казеиновые белки;

М.д.ж – массовая доля жира;

МИ – методика измерений;

НБА – небелковый азот;

ОА – общий азот;

ОБ – общий белок;

ОЖШ – оболочка жировых шариков;

СБ – сывороточные белки;

СМХ – структурно-механические характеристики;

СОМ – сухое обезжиренное молоко;

СОМО – сухих обезжиренных веществ молока;

СС – сухая сыворотка;

ЭВ – эффективная вязкость;

α-LA – α-лактальбумин;

β-LG – β-лактоглобулин.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арет, В.А. Физико-механические свойства сырья и готовой продукции / В.А. Арет, Б.Л. Николаев, Л.К. Николаев. – СПб.: ГИОРД, 2009. – 448с.

2. Барабанщиков, Н.В. Качество молока и молочных продуктов / Н.В. Барабанщиков. – М.: Колос, 1980. – 255 с.

3. Биохимия молока [Электронный ресурс].– Режим доступа: https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/ru/chapter/biohimiya-moloka

4. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Ю. Бёккер. – М.:Технофера, 2009. – 472 с.

5. Богатова, О.В. Химия и физика молока: Учебное пособие /О.В. Богатова, Н.Г. Догарева. - Оренбург: ГОУ ОГУ, 2004. - 137 с.

6. Везирян, В. А. Разработка технологии сыров с использованием молочно-белкового концентрата, полученного методом ультрафильтрации: автореф. дисс. канд. техн. наук: 05.18.04/Валерий Андреевич Везирян. – Москва, 2016. – 24 с.

7. Войтова, Е.В. Использование козьего молока и новых формул на его основе в питании детей раннего возраста / Е.В. Войтова, Н.В. Микульчик// Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. -2015. -№3. – С.18-37

8. Ганина, В.И. Производственный контроль молочной продукции. Учебник /В.И. Ганина, Л.А. Борисова, В.В. Морозова. – М.: ИНФРА-М, 2014. – 248 с.

9. Гнездилова, А.Н. Изучение реологических характеристик консервированного молочного продукта с сахаром и солодом / А.Н. Гнездилова, Т.Ю. Шарова // Молочнохозяйственный вестник. – Вологда: ФГБОУ ВПО «ВГМХА им. Н. В. Верещагина», 2013. - №4 (12) – С. 71-79

10. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова. - 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.:ГИОРД,2001. – 320 с.

11. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов:учебник / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова; под общ. ред. К.К. Горбатовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – СПб.:ГИОРД, 2010.- 336 с.

12. ГОСТ Р 54758-2011 Молоко и продукты переработки молока. Методы определения плотности.- М.: Стандартинформ, 2012. – 16с.

13. ГОСТ 13928-84 Молоко и сливки заготовляемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу (с Изменением N 1). - М.: ИПК Издательство стандартов, 2004 – 6 с.

14. ГОСТ 29245-91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей.- М.: ИПК Издательство стандартов, 2001.–6с.

15. ГОСТ 23327-98 Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка.- М.: Стандартинформ, 2009. – 12с.

16. ГОСТ 34454-2018 Продукция молочная. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля.-М.: Стандартинформ, 2018. – 12с.

17. ГОСТ 30648.2-99 Продукты молочные для детского питания. Методы определения общего белка.-М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – 12с.

18. СТБ ISO 17997-1-2012 Молоко. Определение содержания казеинового азота. Часть 1. Косвенный метод (арбитражный метод).-М.:Госстандарт, 2012. – 9 с.

19. ГОСТ 5867-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира.- М.: Стандартинформ, 2009. – 15 с.

20. ГОСТ Р 54668-2011 Молоко и продукты переработки молока. Методы определения массовой доли влаги и сухого вещества.- М.: Стандартинформ, 2013. – 12 с.

21. ГОСТ Р 54669-2011 Молоко и продукты переработки молока. Методы определения кислотности.- М.: Стандартинформ, 2012. – 11 с.

22. ГОСТ 32892-2014 Молоко и молочная продукция. Метод измерения активной кислотности (с Поправками).- М.: Стандартинформ, 2015. – 10 с.

23. ГОСТ Р 55282-2012 Молоко сырое. Колориметрический метод определения содержания мочевины.- М.: Стандартинформ, 2014. – 13 с.

24. ГОСТ Р 54667-2011 Молоко и продукты переработки молока. Методы определения массовой доли сахаров.- М.: Стандартинформ, 2012. – 24 с.

25. ГОСТ 25101-2015 Молоко. Метод определения точки замерзания (с Поправкой).- М.: Стандартинформ, 2019. – 6 с.

26. ГОСТ 23453-2014 Молоко сырое. Методы определения соматических клеток (с Поправкой).- М.: Стандартинформ, 2015. – 14 с.

27. ГОСТ 32901-2014 Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа (с Поправками) .- М.: Стандартинформ, 2015. – 25с.

28. ГОСТ 31980-2012 Молоко. Спектрометрический метод определения массовой доли общего фосфора.- М.: Стандартинформ, 2013. – 9 с.

29. ГОСТ 33500-2015 Молоко и молочные продукты. Определение содержания фосфатов (с Поправкой).- М.: Стандартинформ, 2016. – 9 с.

30. ГОСТ Р 52054-2003 Молоко коровье сырое. Технические условия (с Изменениями N 1, 2).- М.: Стандартинформ, 2008. – 6 с.

31. ГОСТ 31449-2013 Молоко коровье сырое. Технические условия.- М.: Стандартинформ, 2013. – 6 с.

32. ГОСТ 32940-2014 Молоко козье сырое. Технические условия (с Поправкой).- М.: Стандартинформ, 2019. – 6 с.

33. ГОСТ 31981-2013 Йогурты. Общие технические условия.- М.: Стандартинформ, 2014. – 17 с.

34. ГОСТ 25179-2014 Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли белка.- М.: Стандартинформ, 2015. – 9 с.

35. ГОСТ Р 54390-2011/ISO/TS 16634-2:2009 Продукты пищевые. Определение общего содержания азота путем сжигания по методу Дюма и расчет содержания белка. Часть 2. Зерновые, бобовые и молотые зерновые продукты.- М.: Стандартинформ, 2013. – 19 с.

36. ГОСТ Р 53761-2009 Молоко. Идентификация белкового состава электрофоретическим методом в полиакриламидном геле.- М.: Стандартинформ, 2010. – 11 с.

37. ГОСТ 33528-2015 Молоко и молочные продукты. Идентификация белкового состава электрофоретическим методом в полиакриламидном геле (с Поправкой).- М.: Стандартинформ, 2016. – 14 с.

38. ГОСТ Р 52995-2008 (ИСО 17129:2006) Молоко сухое. Определение содержания соевого и горохового белков с использованием капиллярного электрофореза в присутствии додецил сульфата (SDS-CE). Метод разделения.- М.: Стандартинформ, 2009. – 11 с.

39. ГОСТ 32255-2013 Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод определения физико-химических показателей идентификации с применением инфракрасного анализатора (с Изменением N 1).- М.: Стандартинформ, 2014. – 14 с.

40. Дамодаран, Ш. Химия пищевых продуктов / Ш. Дамодаран, К.Л. Паркин, О.Р. Феннема (ред.-сост.). – Перев. с англ. – СПб. ИД «Профессия», 2012. -1040 с.

41. Даниярова, Г.М. Сравнительная оценка органолептических и физико-химических показателей йогурта из козьего и коровьего молока / Г.М. Даниярова, А.К. Гумарова, А.Б. Абуова, Ф.Х. Суханбердина// Молодой ученый. – 2015. - №6.3 (86.3). – С.29-33

42. Евдокимов, И. А. Мембранные технологии в молочном производстве / И.А. Евдокимов, Д.Н. Володин, В.С. Сомов, Б.В. Чаблин, В.А. Михнева, М.С. Золоторева // Молочная промышленность. – 2013. - №9. – С.15-16

43. Забодалова, Л.А. Технико-химический и микробиологический контроль на предприятиях молочной промышленности: учебное пособие для вузов/ Л.А. Забодалова. - Троицкий мост, 2009. - 224с.

44. Зобкова, З.С. Влияние заквасочных культур и гидроколлойдов на реологические показатели йогурта перемешанного типа / З.С. Зобкова, Т.П. Фурсова// Научное обеспечение молочной промышленности: Сборник научных трудов – М.: 2010 – 83с.

45. Золоторева, М.С. Мембранные процессы в молочной промышленности – эффективно, современно, надежно / М.С.Золоторева, Д.Н.Володин,

М.В.Головкина, В.К.Топалов, В.М.Клепкер, И.А.Евдокимов, Г.С.Анисимов, А.А.Везирян// Сыроделие и маслоделие. – 2012. - №4 - С.70-72

46. Ибрагимова, И.Е. Реология пищевого сырья, продуктов, полуфабрикатов /И.Е. Ибрагимова. - Конспект лекций: Учебное пособие. – М.: Экон-Информ, 2010. – 144 с.

47. Инихов, Г.С. Методы анализа молока молочных продуктов / Г.С. Инихов, Н.П. Брио. - М.: Пищевая промышленность, 1971. - 424 с.

48. Килкаст, Д. Стабильность и срок годности. Молочные продукты / Д. Килкаст, П. Субраманиами (ред.-сост.). – перев. с англ. Под научн. Ред.канд. техн. наук, доц. Ю.Г. Базарновой. – СПб.:ИД «Профессия», 2013. – 376 с.

49. Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ»/ Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев. - СПб.: ООО «Веда», 2006.- 212с.

50. Косой, В.Д. Реология молочных продуктов (полный курс): учебник / В.Д. Косой, Н.И. Дунченко, М.Ю. Меркулов. – М.: ДеЛи принт, 2010. – 826 с.

51. Косой В.Д. Контроль качества молочных продуктов методами физико-химической механики/ В.Д. Косой, А.Д. Малышев, С.Б. Юдина- Спб.:ГИОРД, 2005. – 199с.

52. Краткий обзор по методикам анализа белка в пищевых продуктах [Электронный ресурс]. – 2016. – Режим доступа: http://www.biomer.ru/index.php?part=library&article_id=133

53. Кривцова, Л.А. Изменение пищевой и биологической ценности молока в процессе тепловой обработки / Л.А. Кривцова// Уникальные исследования XXI века. – 2015. - №8. - С.88-93

54. Крупенникова, В.Е. Определение динамической вязкости на ротационном вискозиметре Brookfield RVDV-II+ Pro: Методическое указание/ В.Е. Крупенникова, В.Д. Раднаева, Б.Б. Танганов. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2011. – 48 с.

55. Крусь, Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь, А.М. Шалыгина, З.В. Волокитина; под общ. ред. А.М. Шалыгиной.– М.: Колос, 2000.– 368 с.

56. Кузнецов, О. А. Реология пищевых масс : учебное пособие / О. А. Кузнецов, Е. В. Волошин, Р. Ф. Сагитов. – Оренбург : ГОУ ОГУ, 2005. – 106 с.

57. Курьянова, Н.Х. Влияние различных факторов на состав и свойства молока /Н.Х. Курьянова. - Наука в современных условиях: от идеи до внедрения: материалы международной научно-практической конференции. г. Димитровград, 22 мая 2014/Н.Х. Курьянова. – Димитровград: Технологический институт – филиал ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 2014. – С. 269-304

58. Мазаев, А. Н. О фальсификации молока и молочных продуктов / А.Н. Мазаев, И.А. Шель, М.А. Попова, В.М. Уварова, Л.С. Прохасько// Молодой ученый. — 2014. — №12. — С. 90-92

59. МакКенна, Б.М. Структура и текстура пищевых продуктов. Продукты эмульсионной природы/ Б.М. МакКенна (ред.); пер. с англ. под науч. ред. канд. техн. наук, доц. Ю.Г. Базарновой.- СПб.: Профессия, 2008.- 480с.

60. Мартынова Е.Н. Влияние сезона года на молочную продуктивность, химический состав и технологические свойства молока коров черно-пестрой породы / Е.Н. Мартынова, Е.В. Ачкасова, И.Ф. Дултаева// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. Том 219, №3. Казань, 2014. – С.215-219

61. Мачихина, Ю.А. Реометрия пищевого сырья и продуктов/ Справочник под ред. Мачихина Ю.А. – М.: Агропромиздат. – 1990.- 271 с.

62. Меркулова, Н.Г. Производственный контроль в молочной промышленности/ Н.Г. Меркулова, М.Ю. Меркулов, И.Ю. Меркулов// Практическое руководство – Спб.: Профессия, 2009. – 658с.

63. Мироненко, И.М. Особенности поведения кальция при формировании молочных сгустков Часть 1. Функциональные особенности кальция / И.М. Мироненко, Ю. А. Сиденко// Сыроделие и маслоделие. – 2016. - №5. – С.48-51

64. МУ 4.1/4.2.2484-09 Оценка подлинности и выявление фальсификации молочной продукции. - М.:Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 30с.

65. Мудрикова, О.В. Исследование влияния детергентов на белки молока / О.В. Мудрикова, П.В. Митрохин// Техника и технология пищевых производств. – 2010. – № 1(16). – С. 61-64

66. Николаев, Е.Н. Анализ пептидов и белков методами масс-спектрометрии высокого разрешения / Е.Н. Николаев, Е.Н. И.А. Попов, А.С. Кононихин, М.И. Индейкина, Е.Н. Кукаев// Успехи химии, Том 81,№11, 2012.- С. 1051-1070

67. Осинцев, А.М. Роль ионов кальция в коллоидной стабильности мицелл казеина / А.М. Осинцев, В.И. Брагинский, О.Ю. Лапшакова, А.Л. Чеботарев // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 1. – С. 63–67

68. Остроумова, Т. А. Химия и физика молока: Учебное пособие / Т.А. Остроумова// Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. - Кемерово, 2004.- 196 с.

69. Остроумов, Л.А. Исследование сезонных изменений фракционного состава белков молока / Л.А. Остроумов, Р.А. Шахматов, М.Г. Курбанова// Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 1. – С. 36-41

70. Охрименко, О.В. Биохимия молока и молочных продуктов: методы исследования : учеб.-метод. пособие для студентов вузов, обучающихся по специальностям: 310700 - "Зоология" 310800 - "Ветеринария" / О. В. Охрименко, А. В. Охрименко. - Вологда, пос. Молочное, 2001. – 199 с.

71. Охрименко, О.В. Лабораторный практикум по химии и физике молока /О.В. Охрименко, К.К. Горбатова, А.В. Охрименко.- СПб.:ГИОРД,2005. – 256с.

72. Пирогов, А.Н. Инженерная реология. Учебное пособие / А.Н. Пирогов, Д.В. Доня// Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. Кемерово, 2004. – 110 с.

73. Пирогов, А.Н. Контроль формирования сгустка / А.Н. Пирогов, А.В. Шилов, С.Г. Захаренко, М.А. Захаренко, С.А. Захаров// Молочная промышленность. – 2009. - № 8. – 63с.

74. Пищевая химия / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др. Под ред. А.П. Нечаева. – СПб.:ГИОРД, 2001. – 592 с.

75. Подлегаева, Т.В. Методы исследования свойств сырья и продуктов питания: Учебное пособие. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности / Т.В. Подлегаева, А.Ю. Просеков. - Кемерово, 2004.- 101 с.

76. Просеков, А.Ю. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности / А.Ю. Просеков, М.Г. Курбанова // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 4. – С. 68–71

77. Протасова, Д. Г. Свойства козьего молока / Д.Г. Протасова // Молочная промышленность. − 2001. − № 8. − С. 25−26

78. Рогов, И.А., Антипова Л.В., Дунченко Н.И. Химия пищи. – М.: КолосС, 2007. – 853с.

79. Рогов, И.А. Химия пищи: Белки: структура, функции, роль в питании / И.А. Рогов, Л.В. Антипова, Н.И. Дунченко, Н.А. Жеребцов. – Кн. 1. – М.: Колос, 2000. – 384 с.

80. СанПиН 2.3.4.551-96 Производство молока и молочных продуктов. –М.: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1996. – 66 с.

81. СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. –М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. – 144с.

82. Симоменко, С.В. Особенности состава козьего молока как компонента продуктов питания / С.В. Симоненко, Г.М. Лесь, И.В. Хованова, Т.Н. Головач, Н.В. Гавриленко, Е.М. Червяковский, В.П. Курченко// Труды БГУ, том 4, часть 1. -2009. – С.109-116

83. Сычева, О.В. Учебное пособие «Экспертиза молочного сырья» /О.В. Сычева, И.А. Трубина – Ставрополь: Изд-во СтГАУ «АГРУС», 2013. – 103с.

84. Твердохлеб, Г.В. Химия и физика молока и молочных продуктов / Г.В. Твердохлеб, Р.И. Раманаускас. – М.: ДеЛи принт, 2006. - 360с.

85. Тёпел, А. Химия и физика молока/ А. Тёпел. – Пер. с нем. под ред. канд.техн. наук, доц. С.А. Фльчаковской. – Спб.:Профессия, 2012. – 832с.

86. Тимкин, В.А. Баромембранные процессы в молочной промышленности/ В.А. Тимкин// Аграрный вестник Урала. – 2017. - №06 (160). – С.54-60

87. Трухачёв, В.И. Концентраты белков молока: выделение и применение: монография/ В.И. Трухачёв, В.В. Молочников, Т.А. Орлова, Р.И. Раманаускас. – Ставрополь : АГРУС, 2009. – 152с.

88. ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза "О безопасности молока и молочной продукции" (с изменениями на 20 декабря 2017 года) (редакция, действующая с 15 июля 2018 года) [Электронный ресурс]. - сайт Евразийской экономической комиссии. Режим доступа: http:// www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/deptexreg/Documents/ТР ТС 033 Молоко и молочная продукция.pdf

89. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции"[Электронный ресурс].– сайт Евразийской экономической комиссии.– Режим доступа: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/deptexreg/Documents/ТР ТС 021_Пищевая продукция.pdf

90. Урванцева, Г. А. Методы анализа живых систем : учебное пособие / Г. А. Урванцева, Е.Л. Грачева ; Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. – Ярославль : ЯрГУ, 2013. – 104 с.

91. Финкельштейн, А.В. Физика белка: Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями. – 2-е изд., исп. и доп./ А.В. Финкельштейн, О.Б. Птицын. – М.: Книжный дом «Университет», 2002. – 376 с.

92. Химический состав российских пищевых продуктов: Справочник / Под ред.член-корр. МАИ, проф. И. М. Скурихина и академика РАМН, проф. В. А. Тутельяна. - М.: ДеЛи принт, 2002. – 236 с.

93. Химический состав и энергетическая ценность пищевых продуктов: справочник МакКанса и Уиддоусона / пер. с англ. под общ. ред. д-ра мед. наук А. К. Батурина. — СПб.: Профессия, 2006. – 416 с.

94. Цюпко, В.В. Изучение синтеза основных компонентов молока как составляющих полидисперсной системы / В.В. Цюпко. Сельскохозяйственная биология. Том 49. №4 – М.: 2014. – С.99-105

95. Шейфель, О.А. Биохимия молока и молочных продуктов: Конспект лекций / О.А. Шейфель; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2010. – 126 с.

96. Шидловская, В.П. Небелковые азотистые вещества в молоке и их роль в оценке качества молока. /Шидловская, В.П.// Молочная промышленность. – 2008. - №3 - С.48-52

97. Шидловская, В.П. Роль небелковых азотистых веществ в определении белка / В.П. Шидловская// Молочная промышленность. – 1998. - №5. – С.19

98. Шидловская, В.П. О методах контроля качества молока и молочных продуктов / В.П. Шидловская, Е.А. Юрова// Молочная промышленность.- 2004.- №12. – С.30-33

99. Шувариков, А.С. К вопросу о нормативах оценки козьего молока / А.С. Шувариков// Овцы, козы, шерстяное дело. – 2015. - №4 – С.54-55

100. Шувариков, А.С. О качественных показателях овечьего молока в СХП «ЛУКОЗ»/А.С. Шувариков, С.И. Новопашина, М.Ю. Санников, Т.В. Кожанов// Сыроделие и маслоделие. – 2016. - №5. – С.52-53

101. Юрова, Е.А. Исследование влияния состава и свойств молочного сырья на качество молочной продукции: автореф. дисс. канд. техн. наук: 05.18.04/ Елена Анатольевна Юрова. - Москва, 2012. – 25с.

102. Юрова, Е.А. Методы определения массовой доли белка / Е.А. Юрова// Молочная промышленность. – 2004. - №6. – С.28-29

103. Юрова, Е.А. Современные инструментальные методы контроля молочной продукции /Е.А. Юрова, Т.В. Кобзева// Пищевая промышленность. – 2011. – №4. – С.38 -40

104. Юрова, Е.А. Нормирование показателей качества и идентификационных характеристик молока-сырья / Е.А. Юрова// Молочная промышленность. – 2015. – №8. – С.26-28

105. Abby,T., Boland, M., Singh, H. Milk. Proteins: From Expression to Food. Second edition. Food Science and Technology: International Series 2014. – 606 p.

106. Alston-Mills, B. Nonprotein nitrogen componds in bovine milk. In: Handbook of Milk Composition (ed. R.G. Jensen)/ B. Alston-Mills.- Academic Press, San Diego, CA.-1995.- P.468- 472

107. Bobe, G. Composition of milk protein and milk fatty acids is stable for cows differing in genetic merit for milk production/G. Bobe, G.L. Lindberg, A.E. Freeman, D.C. Beitz// Journal of Dairy Science 90. – 2007.- P. 3955–3960

108. Bock, A. Selenoprotein synthesis: an expansion of the genetic code /A. Bock, K. Forchhammer, J. Heide, C. Baron// Trends Biochem. Sci., 1991. - №16. - P.463-467

109. Brew, K. a-Lactalbumin /K. Brew//Advanced Dairy Chemistry, 3rd ed. 1. -2003.- P. 387-419

110. Caroli, A.M. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition/A.M. Caroli, S. Chessa, G.J. Erhardt// Journal of Dairy Science.- 2009. - №92. - P. 5335–5352

111. Carter, D.C. Structure of serum albumin /D.C. Carter, J.X. Ho// Advances in Protein Chemistry. – 1994. - №45. - P.153–203

112. Cavaletto, M. Milk fat globule membrane components: a proteomic approach /M. Cavaletto, M.G. Giuffrida, A. Conti// Advances in Experimental Medicine and Biology. - 2008. №606. - P. 129–141

113. Chandan, R.C. Dairy Processing & Quality Assurance / R.C. Chandan, A. Kilara, N. P. Shah// John Wiley & Sons. - 2008. – 586 p.

114. Clark, S. Genetic variants of alphas1-CN in goat milk: breed distribution and associations with milk composition and coagulation properties /S. Clark, J.W. Sherbon // Small Ruminant Research. – 2000. - №3. - P. 135–143

115. Csapó, J. A tehéntej táplálkozástudományi szempontból legfontosabb összetevői: Fehérje tartalom és aminosav összetétel, zsírtartalom és zsírsav összetétel, In: A tej szerepe a humán táplálkozásban (ed. S. Kukovics) /J. Csapó, N.Zs. Csapóné// Melánia Kiadó Kft, Budapest, Hungary. - 2009. - P.147–165

116. Czerniawska-Piatkowska, E. A comparison of protein polymorphisms in milk produced by two dairy farms in West Pomerania /E. Czerniawska-Piatkowska, H. Kamieniecki, R. Pilarczyk, E. Rzewucka //Archiv für Tierzucht. – 2004. №47. - P.155–163

117. Eigel, W.N. Nomenclature of proteins of cow′s milk: fifth revision / W. N. Eigel, J.E. Butler // Journal Dairy Science. – 1984. – V.67. - №8. – P. 1589-1631

118. Farrell, H.M. Nomenclature of the proteins of cows' milk/ H.M. Farrell, R. Jimenez-Flores, G.T. Bleck, E.M. Brown, J.E. Butler, L.K. Creamer, C.L. Hicks, C.M. Hollar, K.F. Ng-Kwai-Hang, H.E. Swaisgood // Sixth revision. Journal of Dairy Science. - 2004. №87. - P. 1641–1674

119. Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. Dairy Chemistry and Biochemistry / P.F. Fox, P.L.H. McSweeney. - Kluwer Academic Plenum, New York. – 1998. – 325 p.

120. Haenlein, G.F.W. Goat milk in human nutrition /G.F.W. Haenlein// Small Ruminant Research. - 2004. - №51. - P.155–163

121. Haenlein, G.F.W. Goat milk, its products and nutrition. In: Handbook of Food Products Manufacturing (ed. Y.H. Hui) / G.F.W. Haenlein, Y.W. Park // John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ.- 2007.- P.449-488

122. Hambling, S.G. Betalactoglobulin In: Advanced Dairy Chemistry, Vol. 1. Proteins (ed. P.F. Fox) /S.G.Hambling, A.S. McAlpine, L. Sawyer// Elsevier Applied Science, London. – 1992.- P.141-190

123. Hiraoka, Y. α-Lactalbumin: a calcium metalloprotein / Y. Hiraoka, T. Segawa, K. Kuwajima, S. Sugai, N. Murai// Biochemical and Biophysical Research Communications. - 1980. - №95. - P. 1098–1104

124. Jumah, R.Y. (2001) Effect of milk source on the rheological properties of yogurt during the gelation process/ R.Y. Jumah , R.R., B. Abu-Jdayil// International Journal of Dairy Technology. - 2001. №54. - P.89–93

125. Kontopidis, G. Invited review: Beta-lactoglobulin: binding properties, structure, and function/G.Kontopidis, C. Holt, L. Sawyer// Journal of Dairy Science. – 2004. – №87. - P. 785–796

126. Korhonen , H. Bovine milk antibodies for health: a review /H. Korhonen, P. Marnila, H. Gill// British Journal of Nutrition (Suppl.1). - 2000. - №84. - P. 135 – 146

127. Król, J. Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included in the genetic resources conservation programme/J. Król, Z. Litwińczuk, A. Brodziak,W. Sawicka-Zugaj// Annals of Animal Science. - 2010.- №10. - P. 213–221

128. Kumbar, V. Viscosity and analytical differences between raw milk and UHT milk of czech cows /V. Kumbar, S.Nedomova// Scientia Agriculturae Bohemica. – 2015. - №46 (2). - P. 78–83

129. Lamothe, S. Short communication: extraction of beta-casein from goat milk/ S.Lamothe, G. Robitaille, D. St-Gelais, M. Britten// Journal of Dairy Science.- 2007. - №90. - P. 5380–5382

130. Lindmark-Månsson, H. Composition of Swedish dairy milk /H. Lindmark-Månsson, R. Fonden, H.E. Pettersson// International Dairy Journal. – 2003. - №13. - P. 409–425

131. Markus , C.R. The bovine protein α - lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration and improves mood under stress /C.R. Markus, B. Olivier, G.E. Pamhuysen, J. Vander Gugten, M-S. Alles, A. Tuiten, et al.// American Journal of Clinical Nutrition. – 2000. - №75. - P.1051 – 1056

132. Martin, P. Polymorphisms genetique des lactoproteines caprines /P.Martin// Lait. -1993. - №73. - P. 511–532

133. Mech, A. Variation in milk yield and milk composition during the entire lactation period in Mithun cows (Bos frontalis)/ A. Mech, A. Dhali, B. Prakash, C. Rajkhowa// Livestock Research for Rural Development. - 2008. – №20. - Article 75

134. Meehl, A. Diurnal variations in milk yield and milk constituents during entire lactation in mithun (Bos frontalis) /A. Meehl, A. Dhali, C. Rajkbowa, B. Mann// Indian Journal of Animal Nutrition. - 2010. - №27. - P. 246–253

135. Nollet Leo, M.L., Toldra F. (ed.). Handbook of Dairy Foods Analysis /M.L. Nollet Leo, F. Toldra.- USA: CRC Press, 2010.- 900 p.

136. Park, Y.W. Bioactive Components in Milk and Dairy Products / Y.W. Park// by Wiley-Blackwell, Ltd. 2009. – 426 p.

137. Park, Y.W. Milk and Dairy Products in Human Nutrition Production, Composition and Health / Y.W. Park ,George F.W. Haenlein// by Wiley-Blackwell, Ltd. 2013. – 700 p.

138. Park, Y.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk / Y.W. Park, M. Juarez, M. Ramos, G.F.W. Haenlein// Small Ruminant Research. – 2007. – №68. - P.88–113

139. Park, Y.W. Rheological characteristics of goat and sheep milk/ Y.W. Park// Small Ruminant Research. - 2007.- №68 (1-2). - P. 73–87

140. Patel, A.S. Comparative rheological study of goat milk yoghurt and cow milk yoghurt / A.S. Patel, S.K. Roy// Indian J Dairy Sci. – 2016. - №69(1). - P. 124-127

141. Pérez, M.D. Interaction of beta-lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review/M.D.Pérez, M.Calvo//Journal of Dairy Science. – 1995. - №78. - P. 978–988

142. Reklewska, B. Content of biological active components in milk of cows depending on system and season of feeding [in Polish] /B. Reklewska, E. Bernatowicz, Z. Reklewski, T. Nałęc-Tarwacka, B. Kuczyńska, K. Zdziarski, A. Oprządek//Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego. – 2003. - №68. - P. 85–98

143. Riechel, P. Determination of the minor whey protein bovine lactoferrin in cheese whey concentrates with capillary electrophoresis /P. Riechel,T. Weiss, M. Weiss, R. Ulber, H. Buchholts, T. Scheper// Journal of Chromatography A 817. – 1998.- P. 187–193

144. Singh, H. Milk proteins from expression to food. Second Edition. /H. Singh, M.Boland, A. Thompson. - Riddet Institute, Massey University, Palmerston Noth, New Zealand. 2014.- P.606

145. Singh, H. The milk fat globule membrane. A biophysical system for food applications /H. Singh// Current Opinion in Colloid and Interface Science.-2006.- №11. - P. 154–163

146. Spreer, E. Milk and Dairy Product Technology/E.Spreer// Marcel Dekker Inc., New York, Translated by A. Mixa, Basel. - 1998.- P. 73–154

147. Swaisgood, H.E. Chemistry of the caseins. In: Advanced Dairy Chemistry, Vol. 1. Proteins (ed. P.F. Fox)/H.E.Swaisgood// Elsevier Applied Science, London.- 1992.- P. 63–110

148. Vanderghem, C. Milk fat globule membrane and buttermilks: from composition to valorization /C. Vanderghem, P. Bodson, S. Danthine, M. Paquot, C. Deroanne, C. Blecker// Biotechnology, Agronomy, Society, Environment.-2010.- №14. - P. 485–500

149. Walstra, P. & Jenness, R. Dairy Chemistry and Physics / P. Walstra, R. Jenness. - John Wiley & Sons, Inc., New York. – 1984. – 525p.

150. Wang, J. Determination of major bovine milk proteins by reversed phase high performance liquid chromatography/ J.Wang, Q.H.Zhang, Z.H. Wang, H.M. Li// Chinese Journal of Analytical Chemistry.-2009. - №37. - P. 1667–1670

151. Wood, G.M. Estimation of genetic parameters for concentrations of milk urea nitrogen /G.M.Wood, P.J. Boettcher, J. Jamrozik, G.B. Jansen, D.F. Kelton// Journal of DairyтScience. - 2003.- №86. - P. 2462–2469

152. Whitehouse C. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers /C. Whitehouse, R. Dreyer, M. Yamashita, J. Fenn // Anal. Chem. – 1985. - V. 57. № 3. - P. 675-679

153. Yamashita M. Electrospray Ion-Source – Another Variation on the Free-Jet Theme / M. Yamashita, J. Fenn // J. Phys. Chem. - 1984. - V. 88. № 20. - P. 4451-4459

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(ЕАСС)

EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)

**М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й
С Т А Н Д А Р Т**

ГОСТ

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля

Издание официальное

М и н с к
Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации
2 0 1 9

Федеральное государственное автономное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

Врио директора
ФГАНУ «ВНИМИ» _____ Д.В. Харитонов

Руководитель разработки:
заведующая лабораторией
технохимического контроля _____ Е.А. Юрова

Исполнители:
старший научный сотрудник лаборатории технохимического контроля _____ Т.В. Кобзева

научный сотрудник лаборатории технохимического контроля _____ Д.Н.Мельденберг

Приложение Б

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ (МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION (ISC)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ГОСТ

Проект

Окончательная редакция

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

Федеральное государственное автономное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

Врио директора
ФГАНУ «ВНИМИ» _____ Д.В. Харитонов

Руководитель разработки:
заведующая лабораторией
технохимического контроля _____ Е.А. Юрова

Исполнители:
старший научный сотрудник лаборатории технохимического контроля _____ Т.В. Кобзева

научный сотрудник лаборатории технохимического контроля _____ Д.Н.Мельденберг

Приложение В

RUSSIA
Joint-Stock Company
«BRYANSKY MOLOCHNY KOMBINAT»

50-Army 2c, Bryansk 241035, Russia.
Tel./fax +7 (4832) 52-49-11
E-mail: bmk@ipcity.ru

Расчетный счет № 407 028 108 050 000 10 279
Брянское отделение № 8605 ОАО «Сбербанк России»
БИК 041 501 601
Кор. счет № 301 018 104 000 000 00 601
ИНН 323 2000 207, КПП 3257 01 001,
Код по ОГРН 1023201060233, по ОКПО 004 321

РОССИЯ
Открытое акционерное общество
"БРЯНСКИЙ МОЛОЧНЫЙ КОМБИНАТ"

Россия, 241035, г. Брянск ул. 50-й Армии 2-5.
Тел/факс: +7 (4832) 52-49-11
E-mail: bmk@ipcity.ru

АКТ
Апробации методик измерений содержания общего азота, небелкового азота и сывороточных белков с применением метода Кьельдаля

Мы, нижеподписавшиеся: от ОАО "Брянского молочного комбината" Заместитель генерального директора по производству Повтарь Е.Н., от ФГБНУ «ВНИМИ» зав. лабораторией технохимического контроля, к.т.н. – Юрова Е.А., научный сотрудник – Мельденберг Д.Н., составили настоящий Акт в том, что в условиях производственной лаборатории ОАО "Брянского молочного комбината" проведено обучение сотрудников лаборатории методикам измерения содержания общего азота, небелкового азота и сывороточных белков методом Кьельдаля с последующим внедрением их в производственный контроль предприятия.

Исследованию подвергали молоко сырое, отобранное на участке входного контроля, готовые молочные продукты и ингредиенты. Оценивали полученные результаты и возможность применения методик измерений.

Апробацию методик измерений содержания общего азота, небелкового азота и сывороточных белков использовали для оценки качества молока сырого при входном контроле и для контроля готовых молочных продуктов. Применение разработанных методик позволило решить проблему контроля молочного сырья и молочных продуктов по белковому составу, установить достоверные диапазоны содержания сывороточных белков и небелкового азота в готовой молочной продукции.

_____ Повтарь Е.Н.
_____ Юрова Е.А.
_____ Мельденберг Д.Н.

27 марта 2018г