

УДК 614.3; 535.243.25; 53.082.5

## СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПАСТЕРИЗАЦИИ МОЛОКА

С. Е. Димитриева, А. Н. Лобанов, Л. Л. Чайков, С. В. Кривохижа

*Предложен простой бесконтактный спектральный метод определения наличия или отсутствия пастеризации молока. Метод основан на обнаруженной нами зависимости спектров люминесценции от температуры пастеризации при возбуждении молока ультрафиолетовым излучением с длинами волн 300–420 нм.*

**Ключевые слова:** пастеризованное и непастеризованное молоко, люминесцентный анализ отличий.

*Введение.* Оптические методы широко применяются для исследования различных продуктов питания, в частности молока [1]. Комбинационное рассеяние света, динамическое рассеяние света и люминесценция [1–5] позволяют определить наличие и степень фальсификации молочных жиров растительными. Поляризационные измерения матрицы Мюллера используются для определения качества молока [6] и наличия в нём соматических клеток [7].

На перерабатывающие предприятия молоко должно поступать в сыром, непастеризованном виде [8]. Приём пастеризованного или термизированного молока допустим только в редких случаях. Транспортировка непастеризованного молока летом, в жаркую погоду, представляет для фермера отдельную проблему. Поэтому у производителя часто появляется соблазн поставить переработчику уже пастеризованное молоко, из которого нельзя произвести ряд молочных продуктов.

На сегодняшний день, чтобы определить пастеризовано молоко или нет, применяется процедура анализа, описанная в ГОСТ 3623-2015 [9]. Сырое молоко имеет в своем составе фермент пероксидазы, деактивируемый при нагреве выше 80 °С и фермент щелочной фосфатазы, деактивируемый при температуре не ниже 63 °С. Пероксидаза разлагает перекись водорода, содержащуюся в молоке. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляет йодистый калий, образующий при соединении с крахмалом соединение синего цвета. При отсутствии фермента пероксидазы

содержимое пробирки не меняет цвет. Следовательно, молоко подвергалось пастеризации при температуре не ниже 80 °С. Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 5% непастеризованных продуктов к пастеризованным. Щелочная фосфатаза гидролизует динатриевую соль фенилфосфорной кислоты. Выделяющийся при гидролизе свободный фенол в присутствии окислителя дает розовое окрашивание с 4-аминоантипирином. При отсутствии фосфатазы цвет раствора не меняется. Следовательно молоко подвергалось пастеризации при  $T \geq 63$  °С. Эта процедура требует времени, специфических приборов и реактивов, а также квалифицированного персонала. Цель анализа согласно [9] – выяснить, было ли нагрето молоко до определенной температуры. Детектировать многократную и излишнюю пастеризацию этими методами нельзя.

Есть ряд работ, в которых методами спектроскопии люминесценции изучались состав и поведение молочных продуктов и молока при различных воздействиях (см., напр., обзор [10]). Анализ изменений под воздействием температуры проводился в [11, 12]. В [11] определялись изменения состава молока при нагревании с помощью добавления в молоко люминесцирующих меток. При этом основное внимание было уделено отличиям спектров различных типов молока (коровье, овечье, соевое и др.). В [12] проводился анализ содержания отдельных компонентов молока: рибофлавин (витамин В2), ароматические  $\alpha$ -аминокислоты, витамин А и т. д. В этих работах отсутствует постановка вопроса о применении спектрального анализа люминесценции для определения степени пастеризации. Предложение такого применения делалось в [13], однако в полученных авторами спектрах флюоресценции после термической обработки молока при 70–110 °С в течение 30 секунд не видно разницы.

Поэтому актуальна разработка бесконтактного оптического метода, дающего возможность определить не только пастеризацию молока или её отсутствие, но и позволяющего получить количественные характеристики качества пастеризации. Разработке такого метода и посвящена настоящая работа.

*Материалы и методы исследования.* Материалом исследования являлось цельное непастеризованное, нефильтованное, охлаждённое до температуры не выше  $8 \pm 2$  °С молоко, полученное от здоровых коров джерсейской породы из Владимирской области в летний период, пастбищного содержания, получавших дополнительно небольшой объем концентратов. Жирность молока 7.5%, кислотность 18 °Т (градус Тернера – количество миллилитров раствора едкого натра, необходимого для нейтрализации 100 мл продукта).

Пробы молока предварительно усредняли с помощью миксера Вортекс МХ-М, Dlab, (КНР) при 1500 об./мин, 3 мин.

Нагревание проводили в тепловом шкафу UN30, MEMMERT GmbH & Co KG, калиброванном в соответствии с Directive 93/42/EEC, Annex II, DIN EN ISO 13485, DIN EN ISO 9001.

Для уменьшения времени теплопередачи и равномерного нагрева узких стеклянных виал (объем 2 мл, диаметр 1.2 мм) с пробами молока был специально изготовлен металлический теплопроводящий куб с углублениями – пазами, плотно обхватывающими виалы. Куб предварительно нагревался в шкафу до требуемой в исследовании температуры. После этого виалу с молоком помещали в углубления металлического куба. Молоко нагревалось до  $58\pm 1$  °C;  $80\pm 1$  °C;  $90\pm 1$  °C с экспозицией 30 минут.

После нагрева молоко охлаждалось в холодильнике до температуры  $20\pm 2$  °C, и спектры люминесценции измерялись на люминесцентном спектрометре LS-45 Perkin-Elmer.

*Результаты спектральных измерений.* Спектры люминесценции непастеризованных ( $20\pm 1$  °C) образцов молока, и обработанных при температурах  $58\pm 1$  °C;  $80\pm 1$  °C;  $90\pm 1$  °C, приведены на рис. 1, 2.

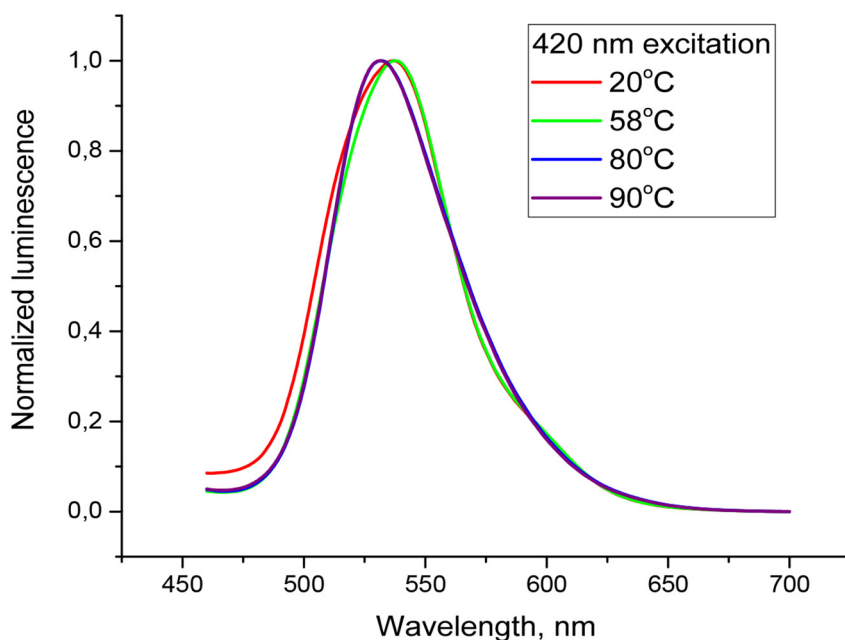


Рис. 1: Спектры люминесценции непастеризованного и пастеризованного молока при возбуждении на длине волны 420 нм.

Видно, что спектры с температурой пастеризации 80 °С и 90 °С практически не отличаются. Заметные отличия имеют место при температуре пастеризации 58 °С и в непастеризованном молоке (20 °С).

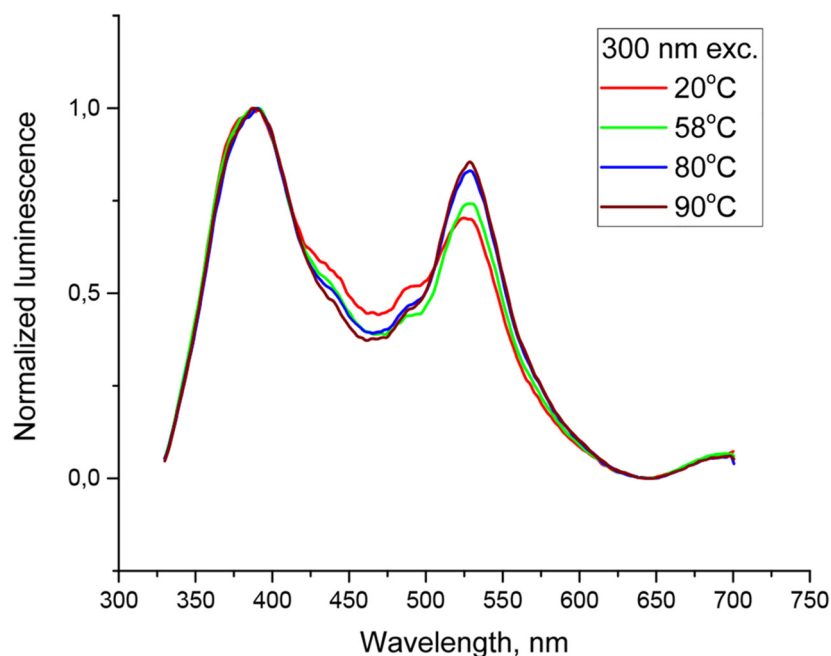


Рис. 2: Спектры люминесценции пастеризованного молока при возбуждении на длине волны 300 нм.

Из рис. 2 видно, что при возбуждении на  $\lambda = 300$  нм отношения интенсивностей пиков при 380 и 528 нм заметно отличаются при различных температурах пастеризации.

Это отношение может служить мерой изменений, вызванных процессом пастеризации. Зависимость этого отношения от температуры пастеризации (рис. 3) позволяет легко отличить пастеризованное молоко от непастеризованного, и, кроме того, позволяет оценить степень пастеризации.

Другим показателем, характеризующим степень пастеризации, может быть положение максимумов пиков люминесценции в зависимости от температуры пастеризации (рис. 4) при длине волны возбуждения 420 нм. Эта зависимость также может служить показателем степени пастеризации, наряду с соотношением амплитуд пиков на рис. 2, 3.

Анализ спектров люминесценции молока, пастеризованного при температурах 80 °С и 90 °С, хорошо коррелирует с испытаниями того же молока, проведенными нами для контроля химическим методом по [9].

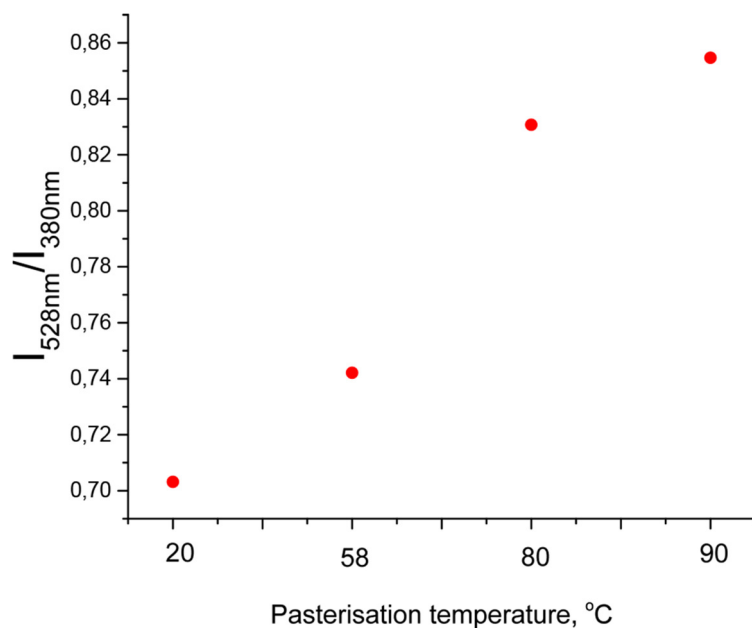


Рис. 3: Отношение интенсивностей пиков люминесценции 528 нм к интенсивности пика 380 нм. Длина волны возбуждения 300 нм.

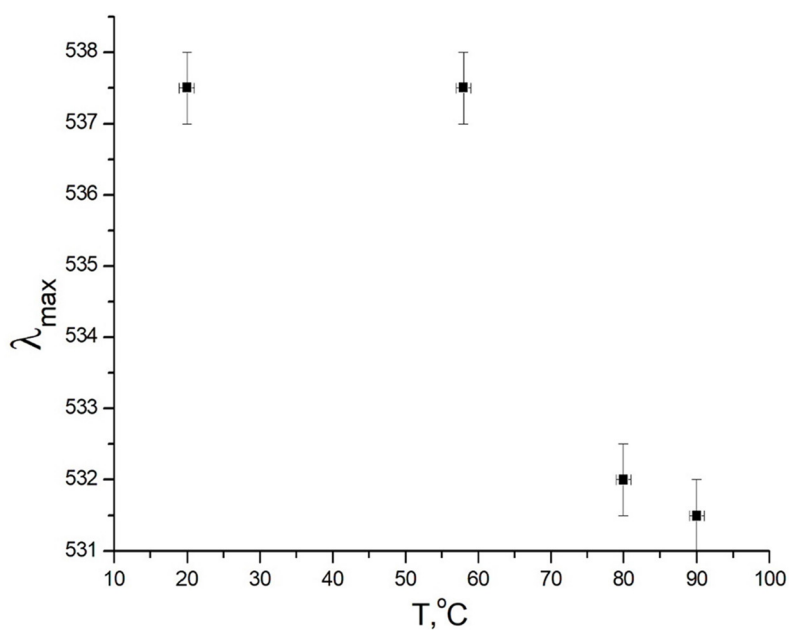


Рис. 4: Положение максимума пика люминесценции в зависимости от температуры пастеризации при возбуждении на длине волны 420 нм.

Однако с помощью контрольного метода можно получить только ограниченную информацию: подвергалось ли молоко нагреванию свыше 63 °С (не менее 30 мин) и 80 °С (не менее 30 с). Из рис. 4 явно следует, что при температуре пастеризации меньше 63 °С положение максимума кривой люминесценции не смещается, т. е. в составе молока не происходит существенных изменений, приводящих к искажению спектральной полосы. При температуре выше 80 °С наблюдается существенный сдвиг максимума кривой люминесценции, сопровождаемый исчезновением фермента пероксидазы. При исследовании по методике ГОСТ [9] это приводит к изменению цвета исследуемого образца, что свидетельствует о пастеризации. Таким образом, измерение сдвига максимума спектральной полосы даёт результаты, эквивалентные методике ГОСТ [9] относительно наличия или отсутствия пастеризации при температурах больше 80 °С. А по отношению интенсивности пиков люминесценции на длинах волн 528 нм и 380 нм при возбуждении на длине волны 300 нм можно судить о том, проводилась ли пастеризация при более низких температурах.

*Заключение.* Таким образом, в работе показано, что спектроскопия люминесценции молока при возбуждении на  $\lambda = 300$  нм и 420 нм может служить хорошим методом определения как наличия или отсутствия пастеризации, так и её количественной характеристики, т. е. температуры, при которой проводилась (или не проводилась) пастеризация.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] H. Deelstra, D. T. Burns, M. J. Walker, Eur. Food Res. Technol. **239**, 725 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2274-0>.
- [2] M. G. Silva, I. L. Paula, R. Stephani, et al., J. Raman Spectrosc. **52**, 2444 (2021). <https://doi.org/10.1002/jrs.6214>.
- [3] М. Н. Кириченко, К. В. Коваленко, С. В. Кривохижа и др., Краткие сообщения по физике ФИАН **48**(6), 34 (2021). DOI: 10.3103/S1068335621060038.
- [4] С. В. Кривохижа, М. Р. Купов, А. Н. Лобанов и др., Краткие сообщения по физике ФИАН **49**(12), 69 (2022). DOI: 10.3103/S1068335622120053.
- [5] L. L. Chaikov, M. N. Kirichenko, S. V. Krivokhizha, et al., Appl. Sci. **13**, 8563 (2023). <https://doi.org/10.3390/app13158563>, <https://www.mdpi.com/journal/applsci>.
- [6] D. N. Ignatenko, A. V. Shkirin, Y. P. Lobachevsky, S. V. Gudkov, Appl. Sci. **12**, 5258 (2022). <https://doi.org/10.3390/app12105258>.

- [7] A. V. Shkirin, N. V. Suyazov, S. N. Chirikov, et al., *Physics of Wave Phenomena* **32**(4), 280 (2024). DOI: 10.3103/S1541308X24700274.
- [8] СанПиН 2.3.4.551-96. 2.3.4. Предприятия пищевой и перерабатывающей промышленности (технологические процессы. Сырье). Производство молока и молочных продуктов. Санитарные правила и нормы (утв. Постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 04.10.1996 № 23).
- [9] ГОСТ 36230-2015, МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ. Методы определения пастеризации (Москва, Стандартинформ, 2019).
- [10] S. M. Andersen, G. Mortensen, J. Agric. Food Chem. **56**, 720 (2008). DOI: <https://doi.org/10.1021/jf072025o>.
- [11] R. Mungkarndee, I. Techakriengkrai, G. Tumcharern, M. Sukwattanasinitt, *Food Chemistry* **197**, 198 (2016). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10>.
- [12] P. Freire, A. Zamora, M. Castillo, *Foods* **13**, 812 (2024). <https://doi.org/102290/foos13050812>.
- [13] G. P. Schamberger, T. P. Labuza, *Journal of food science* **71**(2), C69 (2006). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08884.x>.

Поступила в редакцию 16 октября 2024 г.

После доработки 3 ноября 2024 г.

Принята к публикации 6 ноября 2024 г.