

## Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego do utrwalania mleka wykorzystywanego w serowarstwie

Marek Szoltysik, Anna Dąbrowska, Anna Mandacka  
Katedra Rozwoju Funkcjonalnych Produktów Żywnościowych  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
e-mail: marek.szoltysik@upwr.edu.pl

### Wstęp

Jedną z najważniejszych operacji stosowanych w przetwórstwie mleka jest obróbka cieplna, której głównym celem jest zminimalizowanie zagrożenia zdrowotnego przez zniszczenie szkodliwych dla człowieka drobnoustrojów chorobotwórczych. Dobór parametrów i odpowiedniego systemu obróbki termicznej w technologiach stosowanych w przetwórstwie mleka stanowi jeden z kluczowych elementów. Jednak zastosowanie metod termicznych do zabezpieczenia jakości zdrowotnej wiąże się również z przebiegiem wielu niekorzystnych zmian chemicznych i fizycznych składników mleka, co w konsekwencji często utrudnia przeprowadzenie innych operacji technologicznych i odbija się na jakości ostatecznego wyrobu [7]. Ujemnym skutkiem ogrzewania mleka jest denaturacja  $\beta$ -laktoglobuliny i łączenie się tego białka z  $\kappa$ -kazeiną, co w procesie produkcji serów znacznie utrudnia przebieg koagulacji enzymatycznej, przyczynia się do pogorszenia parametrów reologicznych otrzymywanego skrzepu, a w konsekwencji obniżenia wydajności [4]. Korzystną alternatywą dla tradycyjnej pasteryzacji mleka może być zastosowanie niekonwencjonalnych metod niskotemperaturowych takich jak pulsacyjne pola elektryczne (PEF). W wielu badaniach wykazano skuteczność tej metody w redukcji poziomu mikroflory chorobotwórczej [2, 6, 8], jednak brak informacji dotyczących wpływu PEF na składniki mleka w znacznym stopniu ogranicza szersze wykorzystanie tej metody. Korzystną alternatywą dla tradycyjnej pasteryzacji mleka może być zastosowanie metod niskotemperaturowych takich jak pulsacyjne pola elektryczne (PPE), określane mianem elektropasteryzacji. Proces ten jest bezpieczny, energooszczędny, ekonomiczny i przyjazny dla środowiska. Działanie pulsacyjnych pól elektrycznych polega na zastosowaniu prądu o wysokim napięciu przez bardzo krótki czas (rzędu nano- lub mikrosekund). W wielu badaniach wykazano skuteczność tej metody w redukcji poziomu niepożądanego mikroflory głównie chorobotwórczej [1, 2, 3, 6, 8]. Ekspozycja komórek bakteryjnych na zmiany pola elektrycznego o odpowiednio dużej amplitudzie powoduje zaburzenia rozkładu ładunku błony komórkowej, wyrażające się spadkiem jej oporności i wzrostem przewodnictwa, co w konsekwencji prowadzi do elektroporacji ścian i błon komórkowych bakterii [5].

*Zadanie pn. „Sieć badawcza uczelni przyrodniczych na rzecz rozwoju polskiego sektora mleczarskiego – projekt badawczy” finansowane jest w ramach dotacji celowej Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*



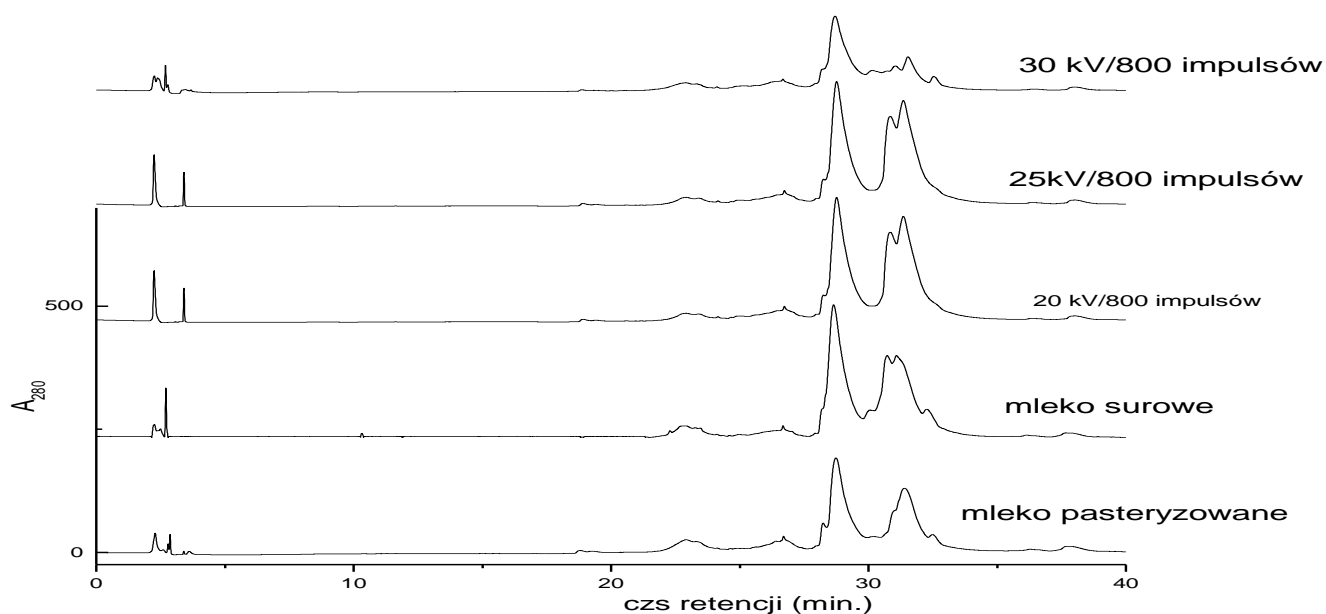
## Materiały i metody

Przedmiotem badań było zoptymalizowanie redukcji testowego szczepu *E. coli* PCM 1057 w mleku surowym przy wykorzystaniu PEF, a także określenie wpływu zastosowanej obróbki na składniki mleka i jego przydatności, jako surowca w serowarstwie. W tym celu do mleka wprowadzano bakterie testowe *E. coli* w ilości ok. 106 j.t.k./ml, a następnie poddawano je działaniu PEF o mocy 20, 25 i 30 kV/cm przy dawce 800 impulsów. Po przeprowadzeniu elektropasteryzacji określono stopień redukcji wprowadzonych do mleka bakterii, wyliczony i podany jako wartość D. Zmiany w obrębie białek mleka analizowano ilościowo poprzez oznaczenie poziomu wolnych grup aminowych, a także jakościowo wykonując analizę elektroforetyczną i rozdział chromatograficzny (RP HPLC). Analiza lipidów mleka obejmowała oznaczenie składu i poziomu wolnych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej. Przydatność technologiczną sprawdzano poprzez określenie podatności kazeiny na działanie enzymów koagulujących, dynamiki ukwaszania bakteriami fermentacji kwasu mlekowego, stopnia przejścia związków azotowych z mleka do serwatki, a także oznaczenie niepożądanych związków lotnych metodą SPME i GC/MS.

## Omówienie wyników

W badaniach wykazano, że uzyskanie bezpiecznego poziomu redukcji testowanego szczepu *E. coli* PCM 1057 w mleku surowym, sięgającego 3-4  $D_{90}$ , co dało równoważny efekt redukcji, jak dla *E. coli* w konwencjonalnej pasteryzacji wyrażony wzorem  $DQ = t + 10 \log \tilde{t}$  (gdzie  $t$  – temperatura;  $\tilde{t}$  - czas trwania - tej temp. w minutach, wartość 10 - ilość stopni, o którą należy podwyższyć temp, żeby uzyskać ten sam efekt zniszczenia drobnoustrojów w czasie 10 x krótszym) wymaga ekspozycji zakażonego surowca w pulsacyjnym polu elektrycznym o mocy 30kV/cm i dawki 800 impulsów. Przyjęcie takich parametrów do utrwalania mleka wykorzystywanego w serowarstwie prowadzi jednak do powstawania szeregu niekorzystnych zmian w obrębie składników mleka oraz zmian niektórych jego parametrów technologicznych.

Analizując profile chromatograficzne uzyskane dla wybranych frakcji białek stwierdzono, że zastosowanie PEF przyczynia się m.in. do częściowego zdenaturowania białek serwatkowych, przy czym większą wrażliwość na ten proces wykazywała  $\alpha$ -laktoalbumina niż  $\beta$ -laktoglobulina (Rys. 1). Zaobserwowano też obniżenie podatności kazeiny mleka na działanie enzymów koagulujących. Niezależnie od rodzaju zastosowanego preparatu enzymatycznego wykorzystywanego w serowarstwie (naturalna chymozyna cielęca, Rennilase – preparat pochodzenia grzybowego, Maxiren – chymozyna rekombinowana), czas koagulacji ulegał 2,5-krotnemu wydłużeniu porównując z mlekiem pasteryzowanym w temp. 75oC przez 15 minut. Pogorszenie krzepliwości mleka może wynikać z interakcji białek serwatkowych z kazeiną.



Rys. 1. Porównanie profili chromatograficznych (RP-HPLC) białek serwatkowych mleka surowego, pasteryzowanego i utrwalonego metodą pulsacyjnego pola elektrycznego.



Tab. 1. Zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (mg/kg tłuszczu mlecznego) w mleku surowym, pasteryzowanym i utrwalonym metodą pulsacyjnego pola elektrycznego.

Kwasy tłuszczowe	Mleko surowe	Pasteryzacja (75°C; 15')	Pulsacyjne pole elektryczne		
			20 kV/ 800 imp.	25 kV/ 800 imp.	30 kV/ 800 imp.
C <sub>4:0</sub>	15	14	13	11	9
C <sub>6:0</sub>	20	21	20	18	17
C <sub>8:0</sub>	27	28	26	25	19
C <sub>10:0</sub>	26	26	25	22	20
C <sub>12:0</sub>	38	38	38	33	26
C <sub>14:0</sub>	63	65	64	56	48
C <sub>14:1</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>16:0</sub>	128	130	122	108	88
C <sub>16:1</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>18:0</sub>	94	92	91	83	79
C <sub>18:1t9</sub>	10	11	10	9	6
C <sub>18:1c9</sub>	87	85	82	76	63
C <sub>18:1t11</sub>	3	3	3	-	-
C <sub>18:2t9,t12</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>18:2c9,c12</sub>	47	46	45	43	30
C <sub>18:2c9,t11(CLA)</sub>	8	8	6	4	-
C <sub>18:2t9,t11(CLA)</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>18:3 n-3</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>18:3 n-6</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>20:1</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>20:4</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>20:5 n-3 (EPA)</sub>	-	-	-	-	-
C <sub>22:6 n-3 (DHA)</sub>	-	-	-	-	-
<b>Σ</b>	<b>566</b>	<b>567</b>	<b>545</b>	<b>488</b>	<b>405</b>

Zmiany w obrębie tłuszczu mlecznego analizowano na podstawie zmian zawartości kwasów tłuszczowych. Wykazano, że zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego (30kV, 800impulsów) przyczyniło się do zmniejszenia stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w mleku o ok. 30% w porównaniu z próbkami utrwalonymi przy wykorzystaniu klasycznej pasteryzacji. Prawdopodobną przyczyną zaobserwowanego zjawiska, mogło być utlenienie części kwasów przez ozon powstający z tlenu rozpuszczonego w mleku na skutek działania pola elektrycznego. Nie stwierdzono natomiast zmian stężenia kwasów związanych w triacyloglicerolach.

W mleku poddawanym działaniu PEF zaobserwowano obecność szeregu niekorzystnych lotnych substancji zapachowych jak: 2-butanon, 2-nonanon, 2-heksanon, 2-undekanon będących produktami utlenienia kwasów tłuszczowych, których nie identyfikowano w próbach mleka pasteryzowanego.

W grupie cech decydujących o przydatności technologicznej w produkcji serów, badano również podatność mleka utrwalonego metodą PEF na proces ukwaszenia bakteriami fermentacji kwasu mlekowego (LAB). W tym celu wprowadzono do mleka szczepionkę zarówno mezofilnych jak i termofilnych bakterii mlekowych, a następnie monitorowano przyrost kwasowości poprzez pomiar pH i oznaczenie kwasowości miareczkowej. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że poddanie mleka działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego nie wpłynęło negatywnie na dynamikę ukwaszenia prowadzona przez LAB, a uzyskane wyniki nie różniły się od prób otrzymanych dla mleka pasteryzowanego.

Analizując wpływ obróbki metodą PEF na stopień przejścia związków azotowych z mleka do serwatki podczas koagulacji enzymatycznej, zauważono, że zawartość tych związków była nieznacznie wyższa niż w wydzielonej z mleka tradycyjnie pasteryzowanego.

#### Bibliografia

1. Bendicho S., Bartosa G., Martin O., (2002). Milk processing by high intensity pulsed electric fields. Trends in Food science and Technology, 13, 195-2004.
2. Evrendilek G., Zhang Q, (2005). Effects of pulse polarity and pulse delaying time on pulsed electric fields-induced pasteurization of *E. coli* O157:H7. Journal of Food Engineering, 68, 271-276.
3. Evrendilek G., Zhang Q, Richter E., (2004). Application of Pulsed Electric Fields to Skim Milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. Biosystem Engineering, 87, 137-144.
4. Fox P. i wsp., (2000). Fundamentals of Cheese Science, AN Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.
5. Heinz V., Alvarez I., Angersbach A., Knorr D., (2002). Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields – basic concepts for process design. Trends in Food science and Technology, 12, 103-111.
6. Perez O., Pilosof M., (2004). Pulsed electric fields effects on the molecular structure and gelation of  $\beta$ -lactoglobulin concentrate and egg white. Food Research International, 37, 102-110.
7. Ziajka S., (1997). Mleczarstwo zagrożenia wybrane, ART, Olsztyn.
8. Ziwei L., Cheng Z., Mittal G., (2006). Inactivation of spoilage microorganisms in apple cider using a continuous flow pulsed field system. LWT, 39, 350-356.



UNIwersytet  
PRzyrodniczy  
WE WROCLAWIU



SZKOŁA GŁÓWNA  
GOSPODARSTWA  
WIEJSKIEGO



UNIwersytet  
ROLNICZY  
W KRAKOWIE



UNIwersytet  
PRzyrodniczy  
W POZNAMIU



UNIwersytet  
WARMIŃSKO-MAZURSKI  
W OLSZTYNIE