ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ПАСТЕРИЗАЦИИ
НА СОСТАВ ОСТАТОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА

ИНФОРМАЦИОННАЯ СТАТЬЯ

Галина Михайловна Свириденко, д-р техн. наук, главный научный сотрудник, руководитель направления микробиологических исследований молока и молочной продукции
E-mail: g.sviridenko@fncps.ru
Татьяна Валентиновна Комарова, младший научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова, г. Углич

В Российский Федерации, для снижения микробиологических рисков, молочная продукция должна вырабатываться исключительно из пастеризованного молока. Исходя из комплексной оценки рисков снижения безопасности и возможной порчи пищевых, в том числе молочных продуктов, существуют следующие пути снижения уровня бактериальной загрязненности: предупреждение загрязнения пищевых продуктов микроорганизмами; создание условий, ограничивающих их жизнедеятельность; использование технологических приемов, губительно действующих на возбудителей пищевых инфекций и микрофлору порчи. Особое внимание вопросу безопасности с этих позиций необходимо уделять производству сыров, так как в основу технологического процесса производства сыра заложена низкотемпературная пастеризация [1–3].

Режимы пастеризации должны обеспечивать получение молока безопасного для здоровья человека, т. е. снизить содержание патогенных и условно патогенных микроорганизмов до гарантированно безопасного уровня. Однако получение качественной и хранимоспособной продукции во многом зависит от остаточной микрофлоры порчи. Надежность пастеризации определяется исходным количеством микроорганизмов, источником которых служит больной скот, обслуживающий персонал, вода и окружающая среда, а так же от видового и штаммового состава микрофлоры сырого молока, т. е. от характера бактериального пейзажа [4, 5].

Для одних клеток заданная температура пастеризации является летальной, для других сублетальной, т. е. клетки испытывают термошок, но способны восстановить жизнедеятельность через определенное время, а на развитие самых термостойких микроорганизмов, например споровых, температура пастеризации не окажет существенного влияния.

В доступной литературе, как отечественной, так и зарубежной, недостаточно данных о проведении комплексных исследований состава остаточной микрофлоры молока, прошедшего низкотемпературную и высокотемпературную пастеризацию, а также о термостабильности микроорганизмов порчи, источником которых может быть сырое молоко.

В данной статье представлены результаты комплексной оценки состава остаточной микрофлоры молока после низкотемпературной и высокотемпературной пастеризации, что дает возможность оценить степень рисков снижения безопасности, качества и хранимоспособности молочной продукции, в том числе сыров.

Для изучения эффективности воздействия низкотемпературной и высокотемпературной пастеризации молока на различные группы микроорганизмов, в стерильное 10 % восстановленное молоко вносили тест-культуры микроорганизмов, источником которых может быть сырое молоко. Заражение проводили в дозах от 10^1 КОЕ/см^3 до 10^7 КОЕ/см^3. После заражения молоко подвергалось температурной обработке соответствующей режимам пастеризации – 72 ± 1 °С и 80 ± 1 °С с выдержкой 10–20 секунд. Для выявления количества остаточной микрофлоры пробы молока после пастеризации и после пастеризации с последующей выдержкой при 8 ± 2 °С в течение 24 часов высевали на соответствующие питательные среды. Выдержку молока после пастеризации проводили для установления возможности/невозможности клеток определенного вида микроорганизмов, получивших термошок, к последующей реактивации.

Результаты исследования термостабильности тест-культур микроорганизмов к пастеризации при различных температурных режимах представлены в таблице 1.

Таблица 1

Термостабильность тест-культур микроорганизмов к пастеризации при различных температурных режимах

Вид микроорганизмов	Доза обсеменения, КОЕ/см^3	Количество выявленных микроорганизмов после пастеризации, КОЕ/см^3*			
		Режимы пастеризации			
		72 °С	72 °С после термошока	80 °С	80 °С после термошока
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	$7{,}0 \times 10^1$	0	0	0	0
Lactococcus lactis subsp. *diacetilactis*	$4{,}8 \times 10^4$	0	0	0	0
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	$1{,}2 \times 10^6$	0	0	0	0
Lactobacillus plantarum РКМБ-207	$6{,}6 \times 10^2$	0	0	0	0
	$8{,}2 \times 10^5$	0	0	0	0
	$4{,}5 \times 10^7$	0	0	0	0
Lactobacillus acidophilus РКМБ-20Т	$1{,}1 \times 10^2$	0	0	0	0
	$2{,}0 \times 10^4$	0	0	0	0
	$1{,}9 \times 10^6$	0	0	0	0
Streptococcus termophilus РКМБ-8595	$2{,}9 \times 10^2$	0	0	0	0
	$1{,}6 \times 10^5$	9×10^0	10×10^0	0	0
	$1{,}4 \times 10^7$	14×10^0	13×10^0	1×10^0	0
Escherichia coli ВКМ 125	$7{,}6 \times 10^1$	0	0	0	0
	$2{,}9 \times 10^4$	0	0	0	0
	$3{,}4 \times 10^6$	$3{,}8 \times 10^1$	$4{,}2 \times 10^1$	2×10^0	$2{,}4 \times 10^1$
Staphylococcus aureus ATCC 6538P (FDA 209P)	$1{,}3 \times 10^2$	0	0	0	0
	$6{,}0 \times 10^4$	0	0	0	0
	$6{,}0 \times 10^6$	5×10^0	10×10^0	0	0
Enterococcus faecalis	$2{,}9 \times 10^3$	$7{,}5 \times 10^2$	$7{,}0 \times 10^2$	0	0
	$2{,}9 \times 10^5$	$2{,}4 \times 10^4$	$2{,}4 \times 10^4$	0	0
	$1{,}6 \times 10^7$	$1{,}7 \times 10^6$	$2{,}5 \times 10^6$	$1{,}4 \times 10^2$	$1{,}5 \times 10^2$
Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145	$5{,}4 \times 10^3$	0	0	0	0
	$5{,}5 \times 10^5$	0	0	0	0
	$4{,}8 \times 10^7$	4	$1{,}2 \times 10^1$	0	0
Clostridium tyrobutiricum Г1(общее количество, включающее как вегетативные клетки, так и споры)	$1{,}3 \times 10^2$	$1{,}1 \times 10^2$	$2{,}5 \times 10^2$	$7{,}0 \times 10^2$	$2{,}5 \times 10^1$
	$2{,}5 \times 10^4$	$1{,}1 \times 10^4$	$1{,}1 \times 10^4$	$1{,}1 \times 10^4$	$7{,}0 \times 10^3$
	$1{,}1 \times 10^7$	$1{,}1 \times 10^1$	$6{,}0 \times 10^5$	$1{,}3 \times 10^6$	$2{,}5 \times 10^5$
Clostridium tyrobutiricum Г1(споры)	$2{,}5 \times 10^1$	$7{,}0 \times 10^1$	$2{,}5 \times 10^2$	$2{,}5 \times 10^1$	$7{,}0 \times 10^1$
	$2{,}5 \times 10^3$	$1{,}1 \times 10^4$	$1{,}1 \times 10^4$	$7{,}0 \times 10^3$	$7{,}0 \times 10^3$
	$1{,}1 \times 10^6$	$1{,}1 \times 10^5$	$7{,}0 \times 10^5$	$2{,}5 \times 10^5$	$2{,}5 \times 10^5$
Bacillus subtilis М-71(общее количество, включающее как вегетативные клетки, так и споры)	$2{,}3 \times 10^3$	$2{,}6 \times 10^3$	$1{,}9 \times 10^3$	$3{,}0 \times 10^3$	$2{,}3 \times 10^3$
	$2{,}7 \times 10^5$	$2{,}2 \times 10^5$	$2{,}4 \times 10^5$	$2{,}4 \times 10^5$	$1{,}7 \times 10^5$
	$2{,}6 \times 10^7$	$3{,}6 \times 10^7$	$2{,}2 \times 10^7$	$2{,}6 \times 10^7$	$2{,}1 \times 10^7$
Bacillus subtilis М-71(споры)	$1{,}7 \times 10^3$	$1{,}6 \times 10^1$	$1{,}5 \times 10^3$	$1{,}3 \times 10^3$	$1{,}3 \times 10^3$
	$2{,}0 \times 10^5$	$1{,}8 \times 10^5$	$1{,}7 \times 10^5$	$8{,}6 \times 10^4$	$1{,}1 \times 10^5$
	$2{,}0 \times 10^7$	$2{,}2 \times 10^7$	$1{,}6 \times 10^7$	$1{,}9 \times 10^7$	$1{,}4 \times 10^7$
Saccharomyces lactis СК-22	$1{,}3 \times 10^2$	0	0	0	0
	$1{,}6 \times 10^4$	0	0	0	0
	$1{,}7 \times 10^6$	$1{,}6 \times 10^1$	$1{,}7 \times 10^1$	0	0
Penicillium roqueforti	$6{,}5 \times 10^2$	0	0	0	0
	$8{,}7 \times 10^4$	$2{,}4 \times 10^1$	$3{,}8 \times 10^1$	0	0
	$5{,}5 \times 10^6$	$2{,}7 \times 10^2$	$3{,}3 \times 10^3$	$2{,}2 \times 10^1$	$1{,}2 \times 10^3$

*в таблице представлены средние значения показателей КОЕ/см^3, ошибка метода подсчета КОЕ при посеве на твердую питательную среду составляет 10 % (ГОСТ 9225-84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа»)

Источник изображения: pexels.com

Лактококкоки, относящиеся к трем подвидам *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* в условиях эксперимента оказались полностью не термостойкими и потеряли способность к росту и размножению после пастеризации независимо от температурного режима и не восстановили способность к развитию после выхода из термошока. Аналогичный результат был получен при исследовании термостабильности тест-культуры термофильной ацидофильной палочки независимо от исходной дозы заражения.

Для тест-культуры термофильного стрептококка низкотемпературная пастеризация оказалась полностью эффективна при концентрации клеток до 10^5 КОЕ/см^3. При более высокой обсемененности исходного молока данными микроорганизмами можно говорить о возможных рисках сохранения единичных жизнеспособных клеток, которые могут стать составной частью остаточной микрофлоры в продукте. При этом не наблюдалось увеличения количества клеток после выдержки пастеризованного молока, т. е. реактивации клеток термофильного стрептококка при низких положительных температурах хранения после перенесенного термошока. Высокотемпературная пастеризация оказалась эффективной для всех испытанных концентраций клеток тест-культуры термофильного стрептококка, при этом способности к реактивации клеток также не выявлено.

Большой интерес представляют результаты исследований эффективности воздействия различных режимов пастеризации на тест-культуру *Escherichia coli*, так как отсутствие признаков роста кишечной палочки в 10 см^3 пастеризованного молока является биологической пробой при проверке эффективности пастеризации. Полученные нами данные свидетельствуют, что при концентрации клеток тест-культуры кишечной палочки в исходном молоке до 10^5 КОЕ/см^3 как низкотемпературная, так и высокотемпературная пастеризация эффективны. Однако при более высоких исходных концентрациях жизнеспособных клеток в исходном молоке (10^5 КОЕ/см^3 – при низкотемпературных режимах пастеризации и 10^6 КОЕ/см^3 для высокотемпературной пастеризации) в пастеризованном молоке остаются жизнеспособные клетки кишечной палочки, способные образовывать колонии на среде КМАФАнМ. При последующей выдержке пастеризованного молока наблюдается реактивация клеток кишечной палочки, получивших термошок, что фиксируется по незначительному увеличению их количества в посевах. Полученные результаты однозначно сви-

детельствуют, о том, что даже тест-культура кишечной палочки, не говоря уже о диких штаммах, обладает относительной термостабильностью и при определенных условиях некоторые клетки способны сохранять и восстанавливать способность к росту и размножению после пастеризации. Полученные данные подтверждаются рядом исследований, косающихся термостабильности микроорганизмов вида *Escherichia coli* [6–8].

Для тест-культуры *Staphylococcus aureus* высокотемпературная пастеризация оказалась летальной при всех испытанных исходных концентрациях клеток стафилококка от 10^2 КОЕ/см^3 до 10^6 КОЕ/см^3 в молоке до пастеризации. При содержании в исходном молоке более 10^6 КОЕ/см^3 тест-культуры стафилококка низкотемпературная пастеризация не привела к полному уничтожению жизнеспособных клеток, также прослеживается способность к реактивации клеток, получивших термошок, т. к. количество клеток после пастеризации с последующей выдержкой 24 часа при 8 ± 2 °С приводит к увеличению их количества в 2 раза. Данные выводы крайне важны для оценки рисков снижения уровня безопасности молока и молочных продуктов, обсемененных *Staphylococcus aureus*.

Для тест-культуры *Pseudomonas aeroginosa*, обладающего психрофильными свойствами, выявлена некоторая термолабильность, что характеризуется способностью единичных клеток сохранять способность к размножению после термической обработки при высокой дозе заражения (более 10^6 КОЕ/см^3), а ряд клеток сохраняют способность к реактивации.

Наибольшую термостабильность из всех испытанных кокковых форм проявляет энтерококк. При низкотемпературной пастеризации при всех исходных дозах заражения в интервале от 10^3 КОЕ/см^3 до 10^7 КОЕ/см^3 результатом термического воздействия было снижение количества жизнеспособных клеток только на один порядок. Эффективность пастеризации относительно энтерококков составляет порядка 25 % при исходном содержании жизнеспособных клеток 10^3 КОЕ/см^3 и порядка 10 % при концентрации клеток 10^7 КОЕ/см^3. Интересным результатом можно считать отсутствие существенной зависимости эффективности температурного воздействия от исходной обсемененности. Энтерококки – первая из выше описанных культур, для которой прослеживается выраженная зависимость термостойкости от температуры пастеризации. Если низкотемпературная пастеризация лишь снижает уровень исходной обсемененности, то при высокотемпературной пастеризации наблюдается невозвратимое уничтожение клеток при их исходной концентрации до 10^5 КОЕ/см^3. При исходной концентрации клеток энтерококка 10^7 КОЕ/см^3 наблюдалось снижение количества жизнеспособных клеток на пять порядков, и остаточное количество микроорганизмов после температурного воздействия составляет лишь 10^2 КОЕ/см^3 без видимого восстановления жизнеспособности клеток после термошока. Таким образом, при высокотемпературной пастеризации независимо от исходного обсеменения уничтожается до 10^5 КОЕ/см^3 энтерококков и при меньших количествах клеток в исходном молоке можно ожидать, что термическая обработка полностью эффективна.

Состав споровой микрофлоры молока представлен споровыми анаэробными мезофильными бактериями рода *Clostridium* и споровыми аэробными и факультативно анаэробными мезофильными микроорганизмами рода *Bacillus*. Споровые микроорганизмы в культуре находятся как в вегетативной форме, так и виде спор. После как низкотемпературной, так и высокотемпературной пастеризации в культуре клостридий количество жизнеспособных клеток уменьшалось незначительно в пределах одного порядка, и прослеживалась прямо пропорциональная зависимость эффективности термической обработки от исходной обсемененности. При этом незначительная способность к реактивации выявлена только при уровне обсемененности 10^2 КОЕ/см3 и низкотемпературной пастеризации, что, возможно, связано с индукцией процесса прорастания спор. Количество спор клостридий после пастеризации или остается без изменения или наблюдается некоторая тенденция к их увеличению. Установлено, что низкотемпературная пастеризация однозначно стимулирует процесс прорастания спор, что проявляется в увеличении количества жизнеспособных клеток клостридий после температурного воздействия и последующей выдержке 24 часа при 8 ± 2 °С.

Тест-культура споровых аэробов рода *Bacillus* как в смешенной культуре (вегетативные клетки и споры), так и в споровой форме оказалась полностью термостойкой при заданных температурных режимах. Что касается эффекта ускорения прорастания спор данной группы бактерий после температурного воздействия, то в отличие от клостридий для микроорганизмов рода *Bacillus* данный эффект не был выявлен.

Тест-культура дрожжей вида *Saccharomyces lactis* теряет жизнеспособность как после высокотемпературной, так и низкотемпературной пастеризации при начальной дозе заражения исходного молока до 10^4 КОЕ/см^3. При дозе заражения 10^6 КОЕ/см^3

низкотемпературная пастеризация не эффективна и остаточное количество дрожжей составляет 10 % от исходного количества, при этом реактивации клеток после термошока не выявлено.

Тест-культура плесневых грибов вида *Penicillium roqueforti* показала большую термостабильность, чем культура дрожжей: низкотемпературная пастеризация оказалась полностью эффективна только при исходной концентрации клеток 10^1 КОЕ/см^3, а высокотемпературная пастеризация – 10^4 КОЕ/см^3. После низкотемпературной пастеризации плесневые грибы сохраняют способность к реактивации клеток в пределах одного порядка, после высокотемпературной пастеризации такая способность утрачена.

Таким образом, остаточная микрофлора молока, прошедшего пастеризацию, разнообразна по составу. Бактериальный пейзаж зависит от исходного состава микрофлоры сырого молока и количества жизнеспособных клеток отдельных групп микроорганизмов. Однако эксперименты, проведенные на тест-культурах, не могут в полной мере отразить реальную картину, так как свойства культур «диких» штаммов в реальных условиях могут существенно отличаться от свойств тест-культур аналогичных видов. ■

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Dumalisile, P.** Impact of different pasteurization temperatures on the survival of microbial contaminants isolated from pasteurized milk / P. Dumalisile, R. C. Witthuhn, T. J. Britz // International journal of dairy technology. 2005. T. 58. № 2. P. 74–82. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00189.x
2. **Свириденко, Г. М.** Микробиологические риски при производстве молока и молочных продуктов: монография / Г. М. Свириденко – М.: Изд-во Россельхозакадемии, 2009. – 245 с.
3. **Pearce, L. E.** Pasteurization of milk: The heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow/ L. E. Pearce [et al.] // Journal of dairy science. 2012. T. 95. № 1. P. 20–35. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4556
4. **Dash, K. K.** A comprehensive review on heat treatments and related impact on the quality and microbial safety of milk and milk-based products / K. K. Dash [et al.] // Food Chemistry Advances. 2022. T. 1. 100041. https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100041
5. **Deeth, H. C.** Heat treatment of milk: Pasteurization (HTST) and thermization (LTLT). Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition / Edited by P. L. H. McSweeney, J. P. McNamara. – London: Academic Press, 2022. – P. 645–654. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00133-1
6. **Evelyn.** Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone / Evelyn, F. V. M. Silva // Journal of Food Engineering. 2018. 222. P. 292–297. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.037
7. **McAuley, C. M.** Heat resistance of thermoduric enterococci isolated from milk / C. M. McAuley [et al.] // International journal of food microbiology. 2012. T. 154. № 3. P. 162–168. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.033
8. **Velliou, E. G.** Heat inactivation of Escherichia coli K12 MG1655: Effect of microbial metabolites and acids in spent medium / E. G. Velliou [et al.] // Journal of Thermal Biology. 2012. T. 37. № 1. P. 72–78. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.11.001